

PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI *Allium sativum*, *Curcuma mangga* DAN *Acorus calamus* TERHADAP JUMLAH KELENJAR ENDOMETRIUM DAN KETEBALAN UTERUS MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh:

MOHAMAD NURUS SHOLIKHIN

NIM. 16620024



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI *Allium sativum*, *Curcuma mangga* DAN *Acorus calamus* TERHADAP JUMLAH KELENJAR ENDOMETRIUM DAN KETEBALAN UTERUS MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh :

MOHAMAD NURUS SHOLIKHIN

NIM. 16620024

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* TERHADAP JUMLAH KELENJAR ENDOMETRIUM DAN KETEBALAN UTERUS MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh:
Mohamad Nurus Sholikhin
NIM. 16620024

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal : 10 September 2021

Pembimbing I



Prof.Dr.drh.Hj.Bayyinatul M. M.Si
NIP. 197109102000032001

Pembimbing II



Mujahidin Ahmad M.Sc
NIP. 198605122019031002

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



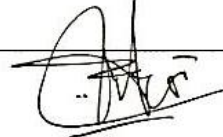
Dr. Lyka Sandi Savitri, M. P.
NIP. 197410182003122002

PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* TERHADAP JUMLAH KELENJAR ENDOMETRIUM DAN KETEBALAN UTERUS MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh:
Mohamad Nurus Sholikhin
NIM. 16620024

Telah dipertahankan
di depan dewan penguji skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 27 Oktober 2021

Penguji Utama	<u>Dr. Kiptiyah, M.Si</u> NIP. 197310052002122003	()
Ketua Penguji	<u>Kholifah Holil, M. Si</u> NIP. 197511062009122002	()
Sekretaris Penguji	<u>Prof.Dr.drh.Bavyinatul Muctaromah M.Si</u> NIP.197109102000032001	()
Anggota Penguji	<u>Mujahidin Ahmad, M.Sc</u> NIP 19860512 2019031002	()

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mohamad Nurus Sholikhin
NIM : 16620024
Fakultas / Prodi : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Penelitian : PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI
Allium sativum, *Curcuma mangga* DAN *Acorus calamus* TERHADAP JUMLAH KELENJAR
ENDOMETRIUM DAN KETEBALAN UTERUS
MENCIT (*Mus musculus*)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan 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, 13 September 2021

Yang Membuat Pernyataan



Mohamad Nurus Sholikhin

NIM. 16620024

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI *Allium sativum*, *Curcuma mangga* DAN *Acorus calamus* TERHADAP JUMLAH KELENJAR ENDOMETRIUM DAN KETEBALAN UTERUS MENCIT (*Mus musculus*)

Mohamad Nurus Sholikhin, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri

Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku obat mulai banyak digemari oleh masyarakat karena dipercaya mempunyai efek samping yang rendah dibandingkan dengan obat-obatan kimia. Untuk meningkatkan efektivitas senyawa yang terkandung pada tanaman-tanaman tersebut dilakukan formulasi menjadi sediaan nanopartikel dengan tujuan untuk mempermudah pencapaian target pengobatan dan meningkatkan luas permukaan sehingga kelarutannya meningkat. Ekstrak kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* diduga memiliki senyawa-senyawa flavonoid yang dapat mempengaruhi organ reproduksi betina. Organ uterus berfungsi sebagai tempat implantasi dan perkembangan sel telur yang telah dibuahi sperma, sehingga jika terjadi perubahan ataupun gangguan pada organ ini akan mempengaruhi fungsi sistem reproduksi. Penelitian dilakukan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan yang dilakukan pada mencit (*Mus musculus*) betina. Perlakuan terdiri dari perlakuan kontrol (K), klomifen sitrat (P1), nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 25 mg/kgBB (P2), nanopartikel kombinasi dosis 50 mg/kgBB (P3), serta jamu dosis 75 mg/kgBB (P4). Data dianalisis dengan *Oneway ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf $\alpha = 0,05$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap histologi uterus mencit dalam meningkatkan tebal endometrium uterus dan jumlah kelenjar endometrium dengan dosis optimal sebesar 25 mg/kg BB.

Kata kunci : *Allium sativum*, *Acorus calamus*, *Curcuma manga*, Fertilitas Flavonoid, Nanopartikel, *Mus musculus*, Uterus

THE EFFECT COMBINATION OF NANOPARTICLES EXTRACT *Allium sativum*, *Curcuma mango* AND *Acorus calamus* ON NUMBER OF ENDOMETRIUM GLANDS AND THICKNESS OF UTERINE MICE (*Mus musculus*)

Mohamad Nurus Sholikhin, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad
Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, State Islamic
University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

The use of plants as medicinal raw materials is starting to be favored by the public because it is believed to have low side effects compared to chemical drugs. To increase the effectiveness of the compounds contained in these plants, formulations were made into nanoparticle preparations with the aim of facilitating the achievement of treatment targets and increasing the surface area so that the solubility increases. Combination extract of *Allium sativum*, *Curcuma mango* and *Acorus calamus* which is thought to have flavonoid compounds that can affect female reproductive organs. The uterine organ functions as a place for implantation and development of an egg that has been fertilized by a sperm, so that any changes or disturbances in this organ will affect the function of the reproductive system. The study was conducted in a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 5 replications performed on female (*Mus musculus*) mice. The treatments consisted of control treatment (K), clomiphene citrate (P1), combined nanoparticle extract at a dose of 25 mg/kgBW (P2), nanoparticle combination at a dose of 50 mg/kgBW (P3), and herbal medicine at a dose of 75 mg/kgBW (P4). The data were analyzed by Oneway ANOVA and continued with the DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) further test with a level of $\alpha = 0.05$. The results of this study indicate that there is an effect of nanoparticles combined with extracts of *Allium sativum*, *Curcuma mango* and *Acorus calamus* on the uterine histology of mice in increasing the thickness of the uterine endometrium and the number of endometrial glands with an optimal dose of 25 mg/kgBW.

Key words : *Allium sativum*, *Acorus calamus*, *Curcuma mango*, Fertility, Flavonoids, Nanoparticles, *Mus musculus*, Uterus

تركيبة الجسيمات النانوية مستخلصات أليوم ساتيفوم (*Allium Sativum*) ، و كركمانجو
(*Curcuma Mangga*) ، و أكوروس كالاموس (*Acorus Callamus*) على عدد الغدد
الباطنية وسمك رحم الفئران من الفئران (*Mus Musculus*)

محمد نور الصالحين ، ، بينة المحترمة ، مجاهدين أحمد

مستخلص البحث

بدأ استخدام النباتات كمواد خام للأدوية يحظى بشعبية لدى الجمهور لأنه يعتقد أن له آثار جانبية منخفضة مقارنة بالعقاقير الكيميائية. لزيادة فعالية المركبات الموجودة في هذه النباتات ، تم تصنيع المستحضرات في مستحضرات الجسيمات النانوية بهدف تسهيل تحقيق أهداف المعالجة وزيادة مساحة السطح بحيث تزداد قابلية الذوبان. يُعتقد أن جذمور المانجو والثوم والجريجو يحتوي على مركبات الفلافونويد التي يمكن أن تؤثر على الأعضاء التناسلية الأنثوية. يعمل عضو الرحم كمكان لزراعة وتطور البويضة التي تم تخصيبها بواسطة الحيوانات المنوية ، بحيث تؤثر أي تغييرات أو اضطرابات في هذا العضو على وظيفة الجهاز التناسلي. أجريت الدراسة بتصميم عشوائي بالكامل (CRD) مع 5 علاجات و 5 مكررات أجريت على إناث فئران (*Mus musculus*). تتكون العلاجات من العلاج الضبط (K) ، وسيترات كلوميفين (P1) ، ومستخلص الجسيمات النانوية المركبة بجرعة 25 مجم / كجم من وزن الجسم (P2) ، وتركيب الجسيمات النانوية بجرعة 50 مجم / كجم من وزن الجسم (P3) ، والأدوية العشبية في جرعة 75 مجم / كجم من وزن الجسم (P4). تم تحليل البيانات بواسطة Oneway ANOVA واستمر مع DMRT (اختبار متعدد المدى) بمستوى = 0.05. تشير نتائج هذه الدراسة إلى وجود تأثير للجسيمات النانوية مع مستخلصات أليوم ساتيفوم ، كركمانجو ، و أكوروس كالاموس على أنسجة الرحم لدى الفئران في زيادة سمك بطانة الرحم وعدد غدد بطانة الرحم مع جرعة مثالية من 25 مجم / كجم من وزن الجسم.

الكلمات المفتاحية: الفلافونويد ، أليوم ساتيفوم (*Allium Sativum*) ، أكوروس كالاموس (*Acorus Callamus*) ، كركمانجو (*Curcuma Mangga*) ، الجسيمات النانوية ، الرحم ، الخصوبة

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan pada kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Berkah, Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan Skripsi ini dengan baik. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian bersama dengan dosen pembimbing yang diketuai oleh Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. dengan judul “Pengaruh Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* Terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Dan Ketebalan Uterus Mencit (*Mus musculus*).

Penyusunan skripsi ini tentu tidak mampu terselesaikan jika tidak adanya bimbingan, arahan, dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah M.Si selaku dosen pembimbing yang penuh dengan keikhlasan dan kesabaran memberikan bimbingan, nasehat, dan motivasi kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
5. Mujahidin Ahmad, M.Sc, selaku dosen pembimbing agama yang telah dengan sabar memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini pada kajian Al-Qur'an dan As-Sunnah.
6. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen wali dan juga penguji skripsi yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat kepada penulis.
7. Dr. Kiptiyah, M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu, kritik dan saran serta arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.

8. Kedua orang tua tercinta bapak Mohamad Salim dan Ibu Sriyati serta kakakku Nurul Khomariyah dan Adik Destya Khoirul Ummah yang selalu mendoakan dan memberi support baik moril maupun materil kepada penulis.
9. Seluruh dosen, laboran, dan staf administrasi di jurusan biologi yang membantu memberikan kemudahan dalam penyusunan skripsi ini.
10. Muhamad Basyarudin, M.Si, yang telah memberikan bantuan, arahan, dan masukan yang membangun kepada penulis.
11. Teman-teman Biologi A 2016 yang telah menjadi teman, sahabat sekaligus keluarga dan penyemangat selama menuntut ilmu di UIN Malang.
12. Teman-teman Biologi angkatan 2016 “Gading Putih” yang kebersamaan penulis dalam penyelesaian studi S1 serta berjuang bersama untuk menyelesaikan tugas akhir di Jurusan Biologi Uin Maliki Malang.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat kepada pembacanya.
Aamiin.

Malang, 12 September 2021

Mohamad Nurus Sholikhin
16620024

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
مستخلص البحث.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIR.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan	10
1.5 Manfaat	10
1.6 Batasan Masalah.....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>)	12
2.1.1 Klasifikasi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>).....	13
2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia Bawang Putih	13
2.2 Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>).....	14

2.2.1 Klasifikasi Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	15
2.2.2 Kandungan Kimia Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	16
2.3 Jeringau (<i>Acorus calamus</i>).....	17
2.3.1 Klasifikasi Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	18
2.3.2 Kandungan Kimia Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	19
2.4 Jamu Subur Kandungan	19
2.5 Klomifen Sitrat.....	21
2.6 Nanopartikel.....	23
2.6.1 Nanopartikel Kitosan	29
2.7 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	32
2.8 Uterus	36
2.8.1 Anatomi Uterus	36
2.8.2 Histologi Uterus	37
2.8.3 Fisiologi Uterus.....	41
2.9 Mekanisme Senyawa Aktif Bawang Putih, Jeringau dan Temu Mangga terhadap Histologi Uterus	43
BAB III METODE PENELITIAN	47
3.1 Rancangan Penelitian	47
3.2 Variabel Penelitian	47
3.2.1 Variabel Bebas	47
3.2.2 Variabel Terikat	47
3.2.3 Variabel Kontrol	48
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	48
3.4 Populasi Sampel Penelitian.....	48
3.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	49
3.5.1 Alat Penelitian.....	49

3.5.2 Bahan	49
3.6 Kegiatan Penelitian	50
3.6.1 Persiapan Hewan coba	50
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	50
3.6.3 Preparasi Sampel Tumbuhan	50
3.6.4 Pembuatan Nanopartikel	51
3.6.5 Penyerentakan Siklus Estrus	51
3.6.6 Pemeriksaan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina	52
3.6.7 Penentuan Dosis Jamu Subur Kandungan	53
3.6.8 Pemberian Perlakuan.....	53
3.6.9 Pembuatan Preparat Histologi.....	53
3.6.10 Pengamatan Histologi Organ	55
3.7 Analisis Data	56
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	57
4.1 Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> , dan <i>Acorus calamus</i> terhadap Ketebalan Lapisan Endometrium, Miometrium dan Perimetrium.....	57
4.2 Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> , dan <i>Acorus calamus</i> terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus	74
BAB V PENUTUP	86
5.1 Kesimpulan	86
5.2 Saran.....	86
DAFTAR PUSTAKA	87
LAMPIRAN.....	104

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat Biologis Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	34
Tabel 4.1 Rata-rata Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> dan <i>Acorus calamus</i> terhadap Tebal Endometrium, Miometrium dan Perimetrium Uterus <i>Mus musculus</i>	59
Tabel 4.2 Ringkasan DMRT 5% dari Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> dan <i>Acorus calamus</i> terhadap tebal lapisan endometrium <i>Mus musculus</i>	65
Tabel 4.3 Ringkasan Penghitungan Rata-rata dan Hasil Uji Duncan Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> dan <i>Acorus calamus</i> terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus <i>Mus musculus</i>	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>) (Stavelikova, 2008).....	13
Gambar 2.2 Morfologi Temu mangga (<i>Curcuma mangga</i>) (Hariana, 2008).....	16
Gambar 2.3 Morfologi Jeringau (<i>Acorus calamus</i>) (Saiderman, 2005).....	18
Gambar 2.4 Tipe-tipe <i>Nanocarrier</i> atau Nanopartikel sebagai Sistem Penghantar Obat (Rawat <i>et al.</i> , 2006)	29
Gambar 2.5 Destilasi Kitin Menjadi Kitosan (Sugita, 2009)	30
Gambar 2.6 Sistem Biopolimer Metode Gelasi Ionik dalam Menyerap Obat (Martien, dkk. 2012).....	31
Gambar 2.7 Formasi Kitosan Tripolifosfat Kompleks Melalui Metode Gelasi Ionotropik (a.) Skema Dari Kompleks Kitosan TPP Membentuk Ikatan yang kuat dan (b.) Gambar AEM, ukuran 200nm (De Paz <i>et al.</i> , 2011).....	32
Gambar 2.8 Mencit (<i>Mus musculus</i>) (Akbar, 2010)	33
Gambar 2.9 Anatomi Organ Uterus Mencit (Rendi <i>et al.</i> , 2016).....	37
Gambar 2.10 Struktur Histologi Uterus Pewarnaan Hematoxilin-Eosin (Alchalabi, 2016)	41
Gambar 2.11 Jalur Klasik Signal Transduksi Estrogen (<i>genomic action</i>) (Cooke, 1998)	45
Gambar 3.1 Skema Cara Pengukuran Ketebalan Endometrium, Miometrium dan Parametrium Uterus (Muchsin, 2009)	55
Gambar 4.1 Gambar irisan melintang histologi uterus mencit dengan pewarnaan Hematoxilin-Eosin pada perbesaran 40 x. (E: Endometrium, M: Miometrium, P (Perimetrium).....	58
Gambar 4.2 Diagram Rata-rata Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> dan <i>Acorus calamus</i> terhadap tebal lapisan endometrium <i>Mus musculus</i>	65
Gambar 4.3 Histologi Uterus Mencit (<i>Mus musculus</i>) dengan Pewarnaan Hematoxilin-Eosin Perbesaran 100 x. Tanda Panah Menunjukkan Kelenjar Endometrium	74
Gambar 4.4 Diagram Penghitungan Rata-rata dan Hasil Uji Duncan Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>Allium sativum</i> ,	

<i>Curcuma mangga</i> dan <i>Acorus calamus</i> terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus <i>Mus musculus</i>	75
--	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian.....	104
Lampiran 2. Data Hasil Analisis Statistik Tebal Endometrium.....	105
Lampiran 3. Data Hasil Analisis Statistik Tebal Miometrium.....	106
Lampiran 4. Data Hasil Analisis Statistik Tebal Perimetrium.....	107
Lampiran 5. Data Hasil Analisis Statistik Jumlah Kelenjar Endometrium.....	108
Lampiran 6. Perhitungan Dosis.....	109
Lampiran 7. Dokumen Peneliti	112

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan organ reproduksi pada perempuan menjadi hal yang cukup serius diperhatikan sepanjang hidup, selain disebabkan karena resiko terpapar berbagai penyakit reproduksi, menopause dan kekurangan nutrisi, hal ini juga berkaitan dengan permasalahan sosial, seperti kurangnya pengetahuan karena minimnya pendidikan dan pernikahan usia dini (Manuaba, 2002). Pasangan dapat dinyatakan mengalami masalah infertilitas jika tidak hamil dalam waktu satu tahun setelah berhubungan seksual (Kashani dan Akhondzadeh, 2017). Permasalahan kesehatan reproduksi ini berhubungan erat dengan kesehatan organ reproduksi. Berbagai hal yang dapat mengakibatkan gangguan organ adalah adanya infeksi organ (vagina, rahim, indung telur, uterus dan ovum), gangguan hormon, penyumbatan kelenjar dan kelainan bentuk (rahim, uterus, ovum) (Nugroho dan Bobby 2014).

Penyakit pada organ reproduksi merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap terjadinya infertilitas (Indarwati dkk, 2017). Deteksi penyebab penyakit pada kesehatan reproduksi dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu pemeriksaan fisik (Anderson & McLaren, 2012), imaging test (pencitraan ultrasonografi) pada organ-organ reproduksi, uji hormon dengan penentuan kadar plasma hormon, terutama hormon luteinizing (LH) dan tes imunologi yang dilakukan untuk menentukan antibodi antisperma dalam darah dan cairan vagina (Olooto, 2015). Berdasarkan Delosantos (2012) berbagai metode tersebut tidak menjamin tingkat keberhasilan mendapatkan keturunan disamping pengeluaran finansial yang tinggi dan efek samping yang cukup besar.

Segala macam penyakit maupun gangguan lainnya yang telah Allah SWT turunkan disertai dengan obatnya dan hanya Allah SWT lah yang mempunyai kekuasaan dalam menyembuhkan, yaitu dalam Hadits riwayat Muslim dan Al-Quran Surat Asy-Syu'ara ayat 80 :

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya : “Setiap penyakit ada obatnya. Jika obat yang tepat diberikan, dengan ijin Allah, penyakit itu akan sembuh” (HR. Muslim No. 4084).

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya : “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku,” (QS: Asy-Syu'aara [26] : 80).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT yang menyembuhkan jika manusia mengalami gangguan kesehatan. Allah mempunyai kekuasaan untuk memberi penyakit dan menyembuhkan manusia. Namun dalam memperoleh kesembuhan Allah tidak serta merta memberi kesembuhan melainkan ada usaha dari manusia dalam mencari kesembuhan itu sendiri. Berdasarkan Tafsir Imam Jamaluddin Al-Qasimi dalam QS: Asy-Syu'ara [26] : 80 menjelaskan bahwa penyakit yang diderita oleh seorang hamba dapat disebabkan karena pelanggaran norma kesehatan. Menurut Shihab (2002) dalam kuasa-Nya untuk menyembuhkan meliputi pemberian hidayah, makan dan minum mutlak sudah diberikan Allah di dunia ini.

Salah satu upaya dalam mengatasi berbagai macam masalah reproduksi adalah dengan terapi menggunakan obat-obatan tradisional yang memiliki kandungan manfaat antibakteri, virus dan organisme pengganggu (Malo dkk, 2017). Obat tradisional adalah penggunaan segala macam ramuan bahan dari alam yang masih diproses secara tradisional untuk berbagai macam pengobatan yang

didasarkan pada pengalaman (Jumiarni, 2017). Pemanfaatan tumbuhan sebagai agen pengobatan memiliki tingkat resiko toksisitas yang rendah atau lebih aman digunakan dalam penggunaan jangka panjang (Sekhri *et al.*, 2013) mudah didapat dan relatif murah (Hermani, 2013).

Tumbuhan obat adalah tumbuhan yang mengandung zat aktif yang bermanfaat bagi tubuh, baik tumbuhan budidaya maupun tumbuhan liar. Tanaman telah digunakan secara luas untuk tujuan pengobatan tradisional sejak zaman kuno (Bangun, 2012). Obat tradisional di Indonesia yang secara umum terbuat dari campuran berbagai macam bahan alam atau herbal disebut dengan jamu. Campuran bahan tersebut dapat berasal dari daun, batang, rimpang ataupun seluruh bagian tanaman tertentu (Dewantari, 2018). Jamu mempunyai berbagai bentuk dengan fungsi yang berbeda-beda dari berbagai daerah di Indonesia (Satriyati, 2017).

Tanaman yang dimanfaatkan sebagai pengobatan melibatkan tumbuhan yang telah ditumbuhkan Allah SWT di bumi baik yang secara liar maupun dalam budidaya. Tumbuhan merupakan sumberdaya alam yang banyak dimanfaatkan manusia karena memiliki berbagai manfaat yang baik. Allah SWT telah menjelaskan dalam QS. Asy-Syu'ara [26] : 7 tentang berbagai manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan yaitu :

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

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

Kata (كَرِيمٍ) karim menurut Shihab (2002) memiliki arti sebagai sesuatu yang subur dan bermanfaat. Menurut Tafsir Jalalain, tanaman atau tumbuh-tumbuhan yang baik adalah berbagai jenis tanaman dengan warna-warna yang indah dan

didalamnya mengandung senyawa aktif yang bermanfaat. Dalam Tafsir Syaikh Abdurrahman bin Nashir as-Sa'di menjelaskan bahwa tumbuhan yang baik merupakan tumbuh-tumbuhan yang mempunyai ragam jenis yang indah dan mempunyai banyak manfaat untuk manusia, salah satunya memiliki kandungan senyawa aktif dan dapat dijadikan makanan atau dikonsumsi. Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dikatakan baik jika memiliki manfaat bagi kehidupan yang salah satunya dapat dimanfaatkan sebagai sarana pengobatan dalam bentuk jamu tradisional.

Susunan komposisi jamur subur kandungan antara lain 15% rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*), 15% bawang putih (*Allium sativum*), 12% rimpang jeringau (*Acorus calamus*) dan komposisi bahan penyusun lain sampai 100% (Mardiyana, 2017). Ketiga tanaman ini adalah bahan utama dari obat herbal subur kandungan dari madura, yang memiliki manfaat untuk menyuburkan, memperkuat kehamilan dan menjaga kebugaran tubuh. Berdasarkan penelitian Muchtaromah (2017) menyatakan bahwa kandungan utama dari tiga tanaman tersebut adalah alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa utama tersebut dapat bermanfaat sebagai immunomodulator, antimikroba dan antioksidan (Mahmoudi *et al.*, 2016). Kandungan senyawa kimia kombinasi tiga tumbuhan tersebut diketahui terdapat senyawa aktif flavonoid, steroid, alkaloid, tannin, curcumin, allicin, dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa isoflavon tersebut dapat berfungsi sebagai senyawa fitoestrogen yang berpengaruh dalam sekresi hormon estrogen pada sistem reproduksi wanita (Zhang *et al.*, 2007). Oleh karena itu kombinasi ketiga tanaman tersebut diharapkan dapat meningkatkan kesuburan pada wanita.

Hormon estrogen adalah salah satu dari hormon steroid yang diproduksi pada ovarium yang memiliki peranan penting terhadap sistem reproduksi betina (Pramesti dkk., 2018). Estrogen dibutuhkan dalam fungsi homeostatik pada organ uterus, mempengaruhi proliferasi endometrium, proliferasi epitel vagina dan mengatur sekresi pituitary hormon yaitu *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH) dan juga mempengaruhi perkembangan kelenjar mammae pada mamalia (Suhandoyo dan Ciptono, 2009).

Selain hormon estrogen yang diproduksi di dalam tubuh (estrogen endogen), terdapat juga hormon estrogen yang didapat dari luar tubuh yaitu fitoestrogen. Fitoestrogen adalah senyawa yang dapat diperoleh dari tumbuhan atau pada biji-bijian yang mempunyai aktivitas estrogenik di dalam tubuh karena memiliki struktur menyerupai estrogen endogen (Suparman, 2006). Fitoestrogen mempunyai struktur 2 penilnaptalen yang mempunyai kemiripan dengan estrogen endogen. Salah satu syarat dalam fitoestrogen dapat bekerja seperti estrogen endogen adalah adanya gugus OH pada fitoestrogen, estradiol dan dietilstilbesrol (Biben, 2012).

Aktivitas proliferasi yang terjadi pada dinding endometrium uterus berasal dari reaksi dinamis dan kompleks hormon-hormon hipotalamus dan hipofisis gonad. Kadar hormon estrogen pada sirkulasi darah baik dari produksi dalam tubuh maupun dari luar tubuh (estrogen eksogen) mempengaruhi aktivitas hipotalamus (Salahuddin dkk, 2019). Berdasarkan Sarwono (1994) pemberian estrogen dengan dosis rendah (kurang dari 50 µg) pada tikus akan memicu feedback positif dari hipotalamus untuk mensekresikan LH dan FSH. Hormon estrogen melakukan aktivitas meningkatkan tebal lapisan endometrium, miometrium dan perimetrium dengan reaksi hiperplasia dan hipertropia. Pengaruh dari rangsangan estrogen akan

memicu hipotalamus mensekresikan hormon *Follicle Stimulating Hormon - Releasing Hormon* (FSH-RH) yang berfungsi dalam stimulasi sekresi hormon FSH (Salahuddin dkk, 2019). *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) akan memberikan rangsang terhadap pembentukan folikel hingga folikel-folikel tersebut matang namun tidak menyebabkan ovarium melakukan ovulasi. Folikel yang telah matang tersebut akan berkembang dan menghasilkan cairan folikel yang mengandung estrogen dalam jumlah yang besar. Kadar estrogen yang meningkat inilah yang menyebabkan peningkatan aliran darah ke saluran organ reproduksi sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan organ. Sel granulosa pada folikel ovarium merupakan sel yang berperan dalam mensekresikan hormon estrogen (Ismudiono dkk., 2010).

Mekanisme terjadinya proliferasi pada uterus adalah adanya aktivitas dari senyawa fitoestrogen yang membentuk ikatan kompleks dalam sitosol. Kemudian fitoestrogen akan menduduki reseptor hormon estrogen dan selanjutnya melakukan difusi ke dalam nukleus dan melakukan inisiasi terhadap transkripsi mRNA dan translasi dalam memproduksi protein sel target sehingga dapat mempengaruhi jumlah sel pada lapisan endometrium, miometrium dan perimetrium (Cooke, 1998). Jumlah kelenjar yang meningkat pada endometrium tersebut akan memberikan nutrisi pada sel telur yang berimplantasi uterus (Guyton dan Hall, 2007). Estrogen reseptor (ER) merupakan reseptor yang memperantai aksi hormon estrogen didalam tubuh sehingga dapat mempengaruhi perkembangan dan diferensiasi sel pada sistem reproduksi (Mulyati, 2016). Didalam tubuh terdapat dua jenis reseptor estrogen yaitu ER α yang terdapat pada uterus, payudara, hipotalamus dan stroma ovarium dan ER β yang terdapat pada ginjal, otak, tulang, jantung, prostat dan sel

endotel (Beshay, 2013). Jika suatu reseptor berikatan dengan estrogen, maka akan terjadi ikatan koaktivator dan mengaktifkan faktor transkripsi. Aktivitas transkripsi gen akan menghasilkan protein tertentu yang kemudian dapat mempengaruhi fungsi sel yaitu terjadinya proses proliferasi pada lapisan uterus (Fuentes dan Siveyra, 2019).

Salah satu hambatan atau kekurangan dalam penggunaan jamu atau ekstrak sebagai pengobatan adalah penggunaan dosisnya yang lebih besar (Ekor, 2014). Pemberian dosis besar ekstrak disebabkan karena tingkat kelarutan suatu ekstrak dalam sistem pencernaan cukup rendah yang mengakibatkan penyerapan dari saluran pencernaan ke aliran darah juga rendah (Zhang *et al.*, 2013). Tingkat kelarutan ekstrak tumbuhan dalam air cukup rendah yaitu hanya sekitar 40% (Xue *et al.* 2012) sehingga dapat menimbulkan efek lain yaitu tingkat toksisitas yang tinggi (Kritika, Kesarwani & Rajiv, 2013). Bioavailabilitas suatu senyawa alam dalam tubuh dipengaruhi oleh tingkat kelarutan senyawa-senyawa tersebut dalam air yang berhubungan dengan kemampuan suatu senyawa menembus dinding atau barrier absorpsi (Ramadon, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya dalam Lailiyah (2018) menjelaskan bahwa pemberian perlakuan ekstrak kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dapat berpengaruh pada histologi uterus yang meliputi tebal lapisan dan jumlah kelenjar endometrium dengan dosis ekstrak 75 mg/kgBB. Namun dosis kombinasi tersebut masih sama dengan dosis pemberian jamu subur kandungan secara langsung sehingga untuk meningkatkan efektivitas perlu adanya teknologi penyalutan obat yang dapat meminimalisir penggunaan dosis dan meningkatkan efektivitas suatu senyawa obat tersebut.

Solusi alternatif yang dapat dilakukan yaitu dengan membuat sediaan kombinasi tiga tumbuhan tersebut menggunakan teknologi nanopartikel (Devi *et al.*, 2015). Tujuan dari penggunaan teknologi nanopartikel yang mana dilakukan dengan menyalut senyawa aktif dengan salah satu metode penyalutan yaitu kitosan adalah untuk mempermudah penyerapan senyawa aktif pada plasma darah sehingga akan lebih efektif dalam pencapaian sel target (Baraggan *et al.*, 2016).

Perkembangan teknologi baru berbasis nanopartikel untuk pengiriman partikel nano ke manusia terus mengalami perkembangan. Metode pengiriman nanopartikel untuk pengobatan penyakit manusia meliputi pemberian oral, pengiriman transdermal, injeksi intravena, atau implantasi (Wennerberg *et al.*, 2011). Nanopartikel yang memiliki ukuran 1-1000 nm yang dibentuk dari formulasi ikatan polimer dapat dimanfaatkan sebagai penyalut senyawa obat dengan mengabsorpsi bahan atau senyawa obat tersebut. Perkembangan penggunaan teknologi nanopartikel saat ini sudah mulai banyak dilakukan dalam metode penghantaran suatu senyawa obat. Hal tersebut karena suatu senyawa obat yang disalut dengan teknologi nanopartikel memiliki karakter yang lebih mudah diserap tubuh karena memiliki luas permukaan yang lebih besar, mudah disebarkan melalui sirkulasi darah, dan lebih akurat dalam menuju sel target (Purbowatiningrum dkk., 2017).

Pada sistem reproduksi sekresi *Follicle Releasing Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH) diproduksi oleh *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH) sangat dipengaruhi oleh kadar hormon estrogen yang merupakan salah satu hormon peptida (Pamungkas dan Wina, 2015). Sifat dari hormon estrogen dalam darah adalah mudah terdegradasi sehingga memiliki rentan kerja yang singkat.

Endopeptida dan eksopeptida yang berada di hiposis, hati dan ginjal mudah melakukan degradasi terhadap hormon estrogen. Sehingga salah satu cara untuk melakukan terapi hormon estrogen adalah dengan dengan pemberian terapi hormon berulang, walaupun juga memiliki efek samping stres fisiologis jika dosis berlebih (Zohar & Mylonas, 2001).

Terapi menggunakan hormon dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi nanopartikel. Partikel nano dapat melindungi dan mengurangi degradasi hormon pada proses perjalanan menuju sel target dan juga dapat mengendalikan proses pelepasan agen senyawa bioaktif (Rather *et al.*, 2013). Partikel nano memiliki potensi yang besar dalam melakukan pertahanan terhadap kinerja hormon dengan cara melindungi hormon dari sel fagosit selama transportasi dan juga dapat melakukan kontrol pelepasan senyawa aktif dalam waktu lama sehingga dapat mencapai organ target dengan lebih baik (Pamungkas dan Wina, 2015).

Nanopartikel kitosan merupakan partikel penghantar obat yang memiliki kelebihan dalam ukuran dan karakteristik permukaan partikel, sehingga berperan penting dalam melintasi membran sel. Keuntungan menggunakan nanopartikel kitosan yakni tergolong polimer mukoadesif alami bersifat biokompatibel, toksisitas rendah dan biodegradable. Kitosan dan tripolifosfat digunakan sebagai bahan sintesis nanopartikel dikarenakan proses ikatan silang (*cross link*) antara oligomer kitosan dengan polianion tripolifosfat menghasilkan stabilitas ikatan yang kuat (Koukaras *et al.*, 2012). Pengembangan penelitian terdahulu mengenai efektivitas jamu subur kandungan dengan komposisi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*), terhadap gambaran histologi uterus mencit menggunakan teknologi nanopartikel

diharapkan dapat meningkatkan kesuburan secara efektif. Oleh karena itu dilakukan penelitian lanjutan tentang potensi nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*) dalam meningkatkan aktivitas proliferasi sehingga meningkatkan ketebalan lapisan organ dan jumlah kelenjar pada uterus

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*) berpengaruh terhadap ketebalan lapisan endometrium, miometrium, perimetrium serta jumlah kelenjar endometrium uterus mencit (*Mus musculus*) ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*), berpengaruh terhadap ketebalan lapisan endometrium, miometrium, perimetrium serta jumlah kelenjar endometrium uterus mencit (*Mus musculus*) ?

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari adanya penelitian ini yakni sebagai berikut :

1. Sumber informasi bagi mahasiswa, peneliti dan masyarakat bahwa nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*) berpotensi dalam peningkatan kesuburan dengan memiliki pengaruh terhadap gambaran histologi uterus mencit (*Mus musculus*).

2. Referensi bagi penelitian selanjutnya bahwa penggunaan teknologi nanopartikel sebagai agen penghantar obat dapat meningkatkan efektivitas kerja obat.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Simplisia sampel bawang putih, temu mangga dan jeringau diperoleh dari UPT. Materia Medika Batu Malang.
2. Sintesis nanopartikel tersalut kitosan menggunakan metode gelasi ionik dengan polimer polianion (TPP) dan polimer polikation (kitosan).
3. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina fertile galur Balb-C, umur 8 minggu, berat 20-25 gram.
4. Penyeragaman siklus estrus menggunakan hormon PMSG dan hCG yang diberikan sesudah aklimatisasi.
5. Parameter histologi uterus meliputi tebal endometrium, miometrium dan perimetrium serta jumlah kelenjar endometrium.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bawang Putih (*Allium sativum*)

Bawang putih adalah tumbuhan yang termasuk dalam family Liliaceae. Family Liliaceae memiliki lebih dari 500 spesies dalam 30 genus yang tersebar secara luas di wilayah Eropa, Asia, Amerika Utara dan Selatan. Bawang putih adalah jenis tanaman umbi yang khas dengan bau menyengat terutama ketika dihancurkan. Perbungaannya adalah umbellate atau umbella kecil. Bunganya kadang-kadang tidak ada atau jarang terbuka, dan layu sejak awal. Bawang putih memiliki aroma khas pedas dan tajam serta memberi kehangatan pada lidah (Divya *et al.*, 2017).

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan tanaman herba dengan batang semu dari pelepah daun yang memiliki tinggi kurang lebih 60 cm dan termasuk tanaman berumpun semusim. Daun bawang putih berbentuk pedang dengan panjang 4-12 cm yang melekat pada batang pohon bawah tanah. Pada bagian daun jumlahnya sesuai dengan jumlah siung atau anak bawang dan setiap anak bawang dilapisi kulit ari tipis berwarna putih (Untari, 2010). Bawang putih memiliki struktur akar serabut dengan jumlah banyak. Tanaman ini banyak dibudidayakan di lahan daerah pegunungan dengan penyinaran cahaya matahari yang baik. Bawang putih termasuk dalam Genus *Allium* karena memiliki umbi yaitu umbi lapis. Umbi bawang putih merupakan komponen utama yang dimanfaatkan sebagai bahan dasar masakan Indonesia (Rahmawati, 2012).



Gambar 2.1 Bawang Putih (*Allium sativum*) (Stavelikova, 2008).

2.1.1 Klasifikasi Bawang Putih (*Allium sativum*)

Menurut (Alam *et al.*, 2016) klasifikasi tanaman bawang putih (*Allium sativum*) adalah :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Equisetopsida
 Subkelas : Magnoliidae
 Ordeo : Asparagales
 Famili : Amaryllidaceae
 Genus : *Allium*
 Spesies : *Allium sativum* L.

2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia Bawang Putih

Bawang putih (*Allium sativum*) mengandung lebih dari 200 senyawa aktif yang diantaranya *allicin*, *sativine*, *adenosin*, *ajoene*, *flavonoid*, *saponin*, *tuberholosida*, *scordinin*. *Alicin* (*diallyl thiosulphynate*) memiliki manfaat sebagai antiradang, antikanker, antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan. Bawang putih memiliki kandungan senyawa lain yaitu enzim alinase, mirosinase dan peroksidase,

vitamin, asam amino, protein dan prostaglandin (Singh, 2008). Menurut Basyier (2011), senyawa *Alicin* bermanfaat untuk memicu pembentukan sel baru (regenerasi), senyawa *sativine* bermanfaat dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan sel, jaringan dan sistem syaraf.

Bawang putih (*Allium sativum*) juga mengandung senyawa fitoestrogen yang bekerja dengan mekanisme jika estrogen endogen dalam tubuh menurun maka fitoestrogen akan menduduki atau berikatan dengan reseptor estrogen sebagai estrogen endogen pengganti. Kandungan fitoestrogen pada bawang putih tersebut diantaranya adalah glycitien, ginestein, metairesinol dan pinoresinol (Lilian *et al.*, 2006). Senyawa ginestein merupakan senyawa aglikon dari senyawa isoflavon yang bertransformasi dengan membentuk reaksi hidrolisis yang kemudian dihasilkan senyawa isoflavon bebas. Ginestein tersusun dari biokanin A yang dimetabolisme menjadi p-etilfenol estrogen inaktif. Selain itu senyawa ginestein juga dapat meningkatkan hormone adenokortikotropik dan luteinizing hormon (LH).

Bawang putih mempunyai manfaat untuk meningkatkan rangsangan seksual atau afrodisiaka karena dapat melancarkan sirkulasi darah. Senyawa tannin, saponin dan alkaloid merupakan senyawa yang dapat meningkatkan afrodisiaka. Peningkatan rangsang seksual dalam hal ini disebabkan karena sirkulasi darah di daerah alat kelamin meningkat sehingga memicu terjadinya ereksi pada pria (Katria, 2006).

2.2 Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Temu manga (*Curcuma mangga*) merupakan tumbuhan famili Zingiberaceae dengan ciri morfologi tinggi $\pm$ 50-70 cm, berbatang semu dan daun berpelepah dengan bentuk bulat dan lonjong pada ujung dan pangkal. Tumbuhan

ini berukuran panjang $\pm$ 30-60 cm, lebar $\pm$ 7,5-12,5 cm. Jenis bunganya adalah bunga majemuk yang muncul dari bagian ujung batang, bentuk bunga bulir dan memiliki warna putih dengan ujung ungu muda. Temu mangga (*Cucuma mangga*) mempunyai rimpang dengan akar serabut berbentuk bulat kering dan mudah untuk dipatahkan. Rimpang temu mangga berwarna kuning, bertekstur keras dan memiliki aroma yang khas seperti mangga sehingga masyarakat menyebut dengan nama temu mangga (Arriviani dkk., 2013).

Temu mangga (*Curcuma mangga*) adalah salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai jamu atau obat tradisional (Hadad, 2001). Pembudidayaan dapat dilakukan dengan menanam rimpang yang berumur 8 bulan pada tanah yang gembur dan subur. Tanaman ini mudah tumbuh didataran rendah dengan kondisi nutrisi pada tanah yang baik dan penyinaran matahari yang cukup (Sudewo, 2006). Tanaman ini memiliki perakaran serabut yang berukuran 25 cm dengan tata letak yang tidak beraturan yang muncul keluar dari rimpang induk. (Hariana, 2008).

2.2.1 Klasifikasi Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Menurut Policegoudra *et al.*, (2011) klasifikasi temu mangga adalah sebagai berikut :

Kindom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma mangga</i>



Gambar 2.2 Morfologi Temu mangga (*Curcuma mangga*) (Hariana, 2008).

2.2.2 Kandungan Kimia Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Temu mangga (*Curcuma mangga*) mempunyai kandungan senyawa aktif yaitu kurkumoid, volatil, terpenoid dan fenol yang bermanfaat sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa dalam temu mangga seperti fenol dan kurkumoid merupakan senyawa polar sehingga hanya dapat dilarutkan menggunakan pelarut polar sedangkan terpenoid dan volatile bersifat non polar atau dapat larut dalam pelarut organik (Policegoudra *et al.*, 2011).

Senyawa triterpenoid dan saponin dari temu manga memiliki manfaat dalam proses fertilisasi yaitu untuk melindungi sel granulosa di ovarium yang pada sel tersebut terdapat reseptor hormon FSH (*Follicle Releasing Hormon*) dan LH (*Luteinizing Hormon*) (Suheimi, 2007). Senyawa *Glutathione S Transferase* (GST) dan *Glutathione Peroksidase* dapat berfungsi sebagai antioksidan dan pencegah kanker. Manfaat lain dari temu mangga adalah untuk pengobatan masalah kesehatan lain seperti mual, demam, masuk angin, penambah nafsu makan, diare,

lemah syahwat, gatal-gatal dan mengecilkan rahim setelah melahirkan (Syukur, 2003).

2.3 Jeringau (*Acorus calamus*)

Jeringau (*Acorus calamus*) memiliki berbagai jenis nama pada setiap belahan dunia, antara lain yakni flag root, sweet sedge, myrtle sedge, sweet myrtle, cinnamon sedge, gladdon, sweet cane, sweet rush, myrtle grass, sweet rooot dan myrtle flag (Balakumbahan *et al.*, 2015). Sedangkan di Indonesia sendiri, tanaman ini dikenal juga dengan sebutan dringo (Rustini, 2010) atau lebih sering dikenal dengan jeringau (Anisah, dkk. 2014). Tanaman ini diduga berasal dari India. Tanaman ini juga dapat ditemukan di Eropa, Rusia Selatan, Asia Kecil Utara, Cina, Jepang, Burma, Sri Lanka, dan AS Utara (Balakumbahan *et al.*, 2015).

Jeringau (*Acorus calamus*) merupakan tanaman monokotil tahunan yang hidup di lahan basah. Tumbuhan ini menyerupai rumput, hidup subur pada kondisi tanah basa dengan ciri khas rimpang berwarna putih dengan ukuran diameter ± 3 cm dan daun yang beraroma kuat. Bagian rimpang jeringau sering digunakan sebagai jamu tradisional sebagai antimikroba (baik bakteri maupun jamur), antioksidan dan antiinflamasi (Devi & Deepak, 2009).

Jeringau (*Acorus calamus*) adalah tanaman herba dengan batang berupa stolon yang bercabang yang memiliki ciri khas rimpang aromatik berbentuk silindris dengan ketebalan lebih dari 2,5 cm. Bagian permukaan luar rimpang berwarna coklat keunguan hingga coklat terang, sedangkan bagian dalam rimpang berwarna putih. Daun *A. calamus* memiliki midvein tunggal yang menonjol. Karakter tersebut menjadi ciri pembeda dari *A. americanus*. Lebar daunnya berkisar 0,7 cm dan 1,7 cm dengan rata-rata lebarnya sebesar 1 cm. Daun simpodial lebih

pendek daripada daun vegetatif. Tanaman ini sangat jarang berbunga maupun berbuah. Panjang bunga jeringau berkisar 3 sampai 8 cm, berwarna coklat, memiliki bentuk tabung atau silinder dan permukaannya ditutupi banyak duri bundar. Spadix memiliki panjang antara 4,9 cm dan 8,9 cm saat masa ekspansi. Buah berukuran kecil seperti buah beri mengandung beberapa biji. Perbungaan dari awal hingga akhir musim panas tergantung pada garis lintang daerah. Tumbuh liar di daerah berawa, dapat tumbuh hingga ketinggian 2000 m di Himalaya, Manipur, Bukit Naga dan di beberapa daerah di India Selatan (Balakumbahan *et al.*, 2015).

2.3.1 Klasifikasi Jeringau (*Acorus calamus*)

Klasifikasi tanaman *Acorus calamus* adalah sebagai berikut (Rajput *et al.*, 2014) :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Liliopsida
 Ordo : Arales
 Famili : Acoraceae
 Genus : *Acorus* L.
 Spesies : *Acorus calamus*



Gambar 2.3 Morfologi Jeringau (*Acorus calamus*) (Saiderman, 2005).

2.3.2 Kandungan Kimia Jeringau (*Acorus calamus*)

Jeingau (*Acorus calamus* L.) memiliki kandungan senyawa aktif berupa 1,2,4-trimetoksi-5-(1-profenil)-benzena atau yang lebih dikenal sebagai asaron (Wahyuni *et al.*, 2012). Menurut Ahmad (2015) dalam penelitiannya diketahui bahwa senyawa kimia utama yang terkandung dalam jeringau adalah steroid, fenol, flavonoid, glikosida, terpenoid dan alkaloid.

Khasiat dari rimpang jeringau pada umumnya dimanfaatkan sebagai, obat terapi mag (lambung) dan obat limpa. Rimpang jeringau juga biasa dimanfaatkan sebagai obat perawatan untuk wanita pasca melahirkan, penghilang rasa sakit, penambah nafsu makan dan meredakan radang. Berdasarkan penelitian Amit *et al.*, (2015) yang dilakukan terhadap hewan coba tikus diketahui bahwa kandungan senyawa aktif beta asarone pada jeringau dapat memberikan aktivitas antispasmodic kepada organ-organ reproduksi dan pernafasan. Pada bagian daun dan rimpang jeringau juga mengandung senyawa flavonoid dan retusin yang dapat bermanfaat sebagai afrodisiaka, analgesic dan anti inflamasi (Pakasi, 2013).

2.4 Jamu Subur Kandungan

Masyarakat suku Madura memiliki reputasi yang baik akan tradisi meracik jamu yang dipercaya ampuh mengatasi berbagai penyakit. Jenis jamu Madura diklasifikasikan menjadi 3 jenis yaitu untuk perawatan khusus wanita (Galian Rapet Istimewa, Empot-empot, Lulur Kuning, Lulur Putih, Boreh Cair, Sabun Sepet Wangi, Sabun Susu, Dupa, dan Ratus), jamu khusus suami istri (jamu menyuburkan kandungan, jamu empot ayam, jamu kuat lelaki, galian rapet dan bubuk kembali gadis), dan jamu untuk penyakit (jamu kencing manis, jamu rheumatik, jamu asam urat, jamu asma) (Nurlaila, 2011). Tradisi minum jamu bagi para wanita Madura

dimulai sejak menstruasi pertama sampai dewasa, sehingga badan tetap bugar (Satriyati, 2017). Perkembangannya jamu Madura diidentikan dengan menjaga keharmonisan hubungan suami istri karena intensitas penggunaanya yang mengarah pada keperluan tersebut (Handayani, 2008).

Jamu Subur Kandungan “Joko Tole” merupakan salah satu jamu tradisional dari Madura yang dipercaya berkhasiat untuk meningkatkan kesuburan dan mengatasi permasalahan reproduksi (Savitri, 2015). Susunan komposisi jamur subur kadungan antara lain 15% rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*), 15% bawang putih (*Allium sativum*), 12% rimpang jeringau (*Acorus calamus*) dan komposisi bahan penyusun lain sampai 100% (Mardyana, 2017). Tiga tumbuhan tersebut merupakan penyusun utama jamu subur kandungan asal madura yang berkhasiat untuk menyuburkan, memperkuat kehamilan dan menjaga kebugaran tubuh. Kombinasi tiga tumbuhan tersebut, terbukti mengandung flavonoid, alkaloid dan triterpenoid (Muchtaromah, 2017) dimana senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, anti mikroba dan imunomodulator (Suhartono dkk., 2012 dan Mahmoudi *et al.*, 2016).

Penyusun utama jamu subur kandungan adalah bawang putih, temu mangga dan jeringau. Bawang putih memiliki banyak manfaat yaitu sebagai antibiotik, antioksidan, antiviral, antijamur, antiprotozoa dan immunomodulator. Bawang putih kaya senyawa organosulfur (*allicin*, *diallyl sulfide* dan *diallyltrisulfide*), alkaloid, steroid, saponin, tanin, dan glikosida yang berperan dalam efek biologis (Arekemase *et al.*, 2013).

Temu mangga mengandung senyawa antioksidan, termasuk chalcones, flavonoid, flavon, glikosida, antrakinon dan berkhasiat mengecilkan rahim setelah

melahirkan, mengatasi demam, bronkitis, peradangan, sakit perut, menambah nafsu makan, pencahar, dan mengobati penyakit kulit dan anti alergi (Kamazeri *et al.*, 2012). Senyawa curcumin dalam temu mangga banyak digunakan sebagai antimikroba (Muchtaromah *et al.*, 2017) dan imunomodulator (Yuandani & Suwarso, 2017).

Jeringau mengandung minyak atsiri dengan unsur kimia utama fenilpropan, monoterpena dan termolabiles seskuiterpenoid yang bermanfaat sebagai antiinflamasi, antioksidan, antiseptik, antibakteri, dan antijamur (Hartati, 2012). Lebih lanjut, formulasi kombinasi ekstrak etanol bawang putih, temu mangga dan jeringau terbukti mempunyai aktifitas antioksidan dan antimikroba (Muchtaromah, *et al.*, 2017). Kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau yang mempunyai aktifitas antioksidan dan antimikroba tinggi adalah (28% : 36% : 36%) dan (25% : 40% : 35%) (Muchtaromah dkk., 2018).

Senyawa turunan flavonoid dalam tanaman bawang putih, temu mangga dan jeringau berpotensi sebagai immunomodulator (Yuandani dan Suwarso, 2017) sehingga mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan mampu menangkal serangan virus, bakteri, atau mikroba lainnya. Arekemase *et al.* (2013) melaporkan bahwa senyawa yang bersifat imunomodulator digunakan untuk memperbaiki sistem imun dengan cara stimulasi (imunostimulan) pada kondisi defisiensi imun dan menekan (imunosupresan) atau menormalkannya pada saat reaksi imun berlebihan.

2.5 Klomifen Sitrat

Klomifen sitrat adalah suatu obat sintesis nonsteroid yang dapat berperan secara agonis maupun antagonis terhadap hormon estrogen. Klomifen sitrat

terbentuk dari dua jenis isomer yaitu isomer trans dan cis. Isomer trans pada klomifen sitrat adalah enklomifen sedangkan isomer cis adalah zulklomifen yang mana dari dua isomer tersebut dapat memberikan efek memicu aktivitas estrogen ataupun menghambat aktivitas estrogen yang berbeda-beda pada setiap individu. Kedua jenis isomer dari klomifen sitrat yang memiliki pengaruh yang besar dalam melakukan induksi ovulasi adalah pada isomer trans atau enklomifen karena keseluruhan dari isomer enklomifen memiliki aktivitas antiestrogenik sedangkan pada isomer cis atau zulklomifen hanya mempunyai aktifitas estrogenik ringan. Namun kedua isomer ini akan dapat meningkatkan 100 kali afinitas hormon estrogen daripada sebelum diaktivasi setelah keduanya mengalami reaksi hidroksilasi yang menghasilkan senyawa metabolit fenolik untuk memicu aktivitas ovulasi (Adashi, 2003).

Aktivitas dari klomifen sitrat yang diberikan dapat langsung berpengaruh pada keseluruhan jaringan organ reproduksi yang disana terdapat reseptor hormon estrogen dengan melakukan kompetisi dengan reseptor estrogen endogen yang mengakibatkan adanya penurunan reseptor estrogen endogen dalam tubuh. Mekanisme yang terjadi adalah dengan melakukan pengikatan yang berkepanjangan dan melakukan penipisan reseptor estrogen hipotalamus sehingga akan memblokir umpan balik negatif normal dari estrogen endogen pada sekresi *gonadotropin releasing hormone* (GnRH). Sehingga karena kurangnya sinyal kadar estrogen pada darah maka akan memicu GnRH untuk melakukan sekresi hormon FSH dan LH. Sehingga akan memicu organ ovarium untuk melakukan aktivitas folikulogenesis dan stroidogenesis yang menyebabkan peningkatan kadar estradiol dalam darah dan meningkatkan perkembangan dan pertumbuhan folikel. Klomifen

sitrat pada ovarium memiliki pengaruh langsung dalam meningkatkan sensitivitas sel granulosa terhadap hormon FSH dan LH (Sperrof, 1994).

Adanya kemiripan struktur dari reseptor estrogen dalam tubuh dengan klomifen sitrat merupakan suatu alasan mengapa klomifen sitrat dapat meningkatkan laju ovulasi karena klomifen sitrat dapat berikatan dengan reseptor estrogen endogen. Klomifen sitrat akan menempati reseptor estrogen endogen selama berminggu-minggu sehingga akan menimbulkan kesalahan interpretasi dari GnRH dalam menganalisa kadar hormon estrogen dalam tubuh yang menyebabkan peningkatan sekresi FSH dan LH. Aktivitas yang terjadi pada hipotalamus merupakan efek dari klomifen sitrat yang mempengaruhi reseptor estrogen intraseluler (Balen *et al.*, 2016).

2.6 Nanopartikel

Nanoteknologi dalam perkembangannya di bidang kesehatan dan ilmu pengetahuan mulai banyak dikembangkan oleh ilmuwan, dokter dan ahli kimia (Jain *et al.*, 2006). Nanoteknologi adalah ilmu yang mempelajari partikel dengan ukuran 1-1000 nm (Buzea *et al.*, 2007). Ukuran nanopartikel yang kecil diharapkan memberikan manfaat yang besar dalam bidang kesehatan dalam pengiriman obat ke target atau dengan tujuan yang lainnya. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surat Yunus 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 : “Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al-Qur'an dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarrah (atom) di bumi ataupun langit. Tidak ada yang

lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfudz).” (QS: Yunus [10] : 61)

Allah menjelaskan bahwa “*Tidak ada yang luput dari pengetahuan tuhanmu biarpun sebesar zaarah di bumi*”. Hal itu menerangkan bahwa Allah SWT mengetahui dan mengawasi segala sesuatu yang terjadi atau dilakukan ciptaan-Nya di dunia ini yang telah tertulis dalam *Lauh Mahfudz*. Menurut Tafsir Shihab (2002) dalam *Tafsir Al-Misbah* lafal *Zarrah* diartikan oleh sebagian mufassir menjadi beberapa makna yaitu semut yang sangat kecil, kepala semut, debu yang berterbangan diantara celah sinar matahari yang dalam era sekarang dimaknai sebagai molekul atom yang tidak dapat dilihat oleh mata biasa tanpa alat bantu karena ukurannya yang sangat kecil. Namun, Jika dengan ukuran yang sangat kecil tersebut Allah SWT telah menghendaki, maka akan mendatangkan manfaat. Seperti halnya pada nanopartikel, dengan ukuran yang sangat kecil namun diyakini dapat dijadikan sebagai agen penghantar obat yang efektif.

Nanopartikel memiliki sifat mudah terdispersi dan tersebar seperti aerosol, suspensi koloid atau gumpalan (Buzea *et al.*, 2007). Menurut bidang farmasi nanopartikel merupakan metode enkapsulasi senyawa obat dalam ukuran nanometer dengan agen pembawa berukuran nano yang disebut dengan nanocarrier (Abdassah, 2012). Nanocarrier merupakan material berskala nano (dibawah 1 nm) yang tersusun atas material biodegradable yang berbeda seperti polimer alami atau sintetis, lipid atau fosfolipid, dan senyawa organologam. Nanocarrier berukuran submikron memiliki rasio permukaan terhadap volume yang sangat tinggi, yang menyebabkan peningkatan laju disolusi. RES biasanya bertanggung jawab atas serapan nanopartikel dalam tubuh. Nanocarrier mencakup beragam

sistem submikron seperti nanopartikel, nanocapsules, kompleks lipid, misel polimer, dan dendrimers. (Rawat *et al.*, 2006) :

1. Nanokristal dan nanosuspensi

Nanokristal merupakan salah satu partikel agregat yang terusun dari ratusan atau ribuan partikel lain yang bergabung dalam bentuk kristal. Nanokristal tersusun dari obat murni yang hanya dilapisi oleh lapisan tipis yang terdiri dari surfaktan atau kombinasi surfaktan. Teknik pembuatan nanocrystals dikenal sebagai nanonisation. Teknik pembuatan nanosuspensions adalah obat didispersikan dalam larutan surfaktan cair dengan pengadukan berkecepatan tinggi. Makrosuspensi yang diperoleh kemudian dihomogenisasi menjadi nanosize dengan penggilingan basah, homogenisasi bertekanan tinggi, nanocrystallisasi dari larutan jenuh dan pengeringan semprot (*spray drying*) .

Teknologi nanokristal dapat dimanfaatkan untuk berbagai bentuk sediaan. Partikel nano yang memberikan potensi untuk menargetkan mukosa saluran cerna setelah pemberian secara oral, dan menargetkan sel-sel dari sistem fagositik mononuklear (MPS) untuk mengobati infeksi seperti infeksi jamur mikobakteri dan leishmaniasis, sehingga berfungsi sebagai sistem pengiriman yang menguntungkan untuk obat-obatan seperti amfoterisin B, tacrolimus, dll. Ukuran nanocrystals memungkinkan perjalanan yang aman dan efektif melalui kapiler.

2. *Nanotube* dan *nanowire*

Nanotube adalah kumpulan partikel berbentuk tabung yang disusun oleh lembaran atom. Strukturnya seperti benang dalam ukuran nano. Memiliki karbon berdinding tunggal. *Nanocarrier* jenis ini memiliki kelebihan dalam

menghantarkan gen atau asam nukleat melalui pelapisan nanotube dengan polimer asam ribonukleat atau serum albumin sapi untuk mengurangi hidrofobisitasnya.

3. Nanopartikel keramik

Nanopartikel keramik merupakan nanopartikel yang tersusun dari senyawa anorganik (keramik) seperti silika, titania dan alumina. Nanopartikel keramik berukuran kurang dari 50 nm, yang membantu partikel ini menghindari sistem retikuloendotelial (RES) tubuh. Partikel ini memberikan proteksi molekul seperti protein, enzim dan obat-obatan dari denaturasi pH dan suhu. Selain itu nanopartikel keramik juga menunjukkan sifat kompatibilitas dan kemudahan modifikasi permukaan untuk penargetan yang efektif.

4. Liposom

Liposom merupakan vesikel berlapis ganda konsentris di mana volume cairan seluruhnya tertutup oleh lapisan ganda membrane lipid yang terutama terdiri dari fosfolipid. Liposom terbentuk ketika lipid terhidrasi sehingga menjadikan tumpukan cairan. Liposom memiliki karakteristik dalam hal ukuran, muatan permukaan dan jumlah bilayers sehingga memiliki sejumlah keunggulan karakter amphiphilic, biokompatibilitas, dan kemudahan modifikasi permukaan membuatnya menjadi kandidat yang cocok sistem untuk obat bioteknologi. Liposom telah berhasil digunakan di bidang biologi, biokimia dan kedokteran yaitu mengubah profil farmakokinetik obat yang dimuat terutama protein dan peptida dan dapat dengan mudah memodifikasi permukaan unit polietilen glikol (PEG) sehingga dapat menghantarkan obat secara spesifik.

5. Nanopartikel lipid padat

Nanopartikel lipid padat merupakan partikel berukuran 50-1000 nm yang terbuat dari lipid padat. Partikel ini dapat terdistribusi dengan baik dalam air maupun larutan surfaktan. Partikel ini terdiri dari inti hidrofobik padat yang memiliki lapisan monolayer fosfolipid. Inti tersebut mengandung obat yang dilarutkan dalam lipid padat yang dilelehkan. Rantai hidrofobik fosfolipid tertanam dalam matriks lemak. Nanopartikel ini tidak beracun dibandingkan dengan nanopartikel polimer dan dapat digunakan sebagai agen transfeksi antivirus yang efektif. Pemberian nanopartikel ini dapat melalui parenteral, pulmonal, dan topikal.

6. Nanopartikel polimerik

Nanopartikel polimerik terbuat dari polimer sintesis maupun semi sintesis berukuran 10-1000 nm. Bahan polimer memiliki sifat yang biokompatibilitas, bidegradabilitas, bioavailabilitas, mudah dilakukan modifikasi permukaan, dan fungsionalisasi polimer yang mudah. Selain itu, nanopartikel polimerik bersifat stabil sehingga memudahkan pengendalian penghantaran obat. Nanopartikel polimer dapat terdegradasi secara biologis dan berperan dalam pengiriman antigen ke sel dendritik.

7. Nanopartikel Hidrogel

Nanopartikel hidrogel adalah nanopartikel yang pembentukannya melibatkan polimerik lain yang beragregasi amfifil dengan polimer alami seperti polisakarida terhidrofobik seperti cholesteroyl pullulan. Hidrogel sangat responsif terhadap perubahan PH dan suhu. Penggunaan nanopartikel hydrogel ini dimanfaatkan untuk membungkus hemoglobin sapi untuk pengobatan hipoksia

yang disebabkan penurunan suhu tubuh. Nanopartikel ini juga digunakan dalam pengiriman antigen, DNA dan oligonukleotida yang efektif.

8. *Copolymerized peptide nanoparticles (CPP)*

Modifikasi lain dari sistem berbasis polimer adalah copolimerisasi partikel nano peptida. Sistem penghantaran untuk pengiriman peptida terapeutik sebagai konjugat obat-polimer di mana bagian obat terikat secara kovalen pada penghantar obat (terperangkap). Sistem ini perlu dieksplorasi lebih lanjut untuk pengiriman molekul (peptida dan protein) secara efektif.

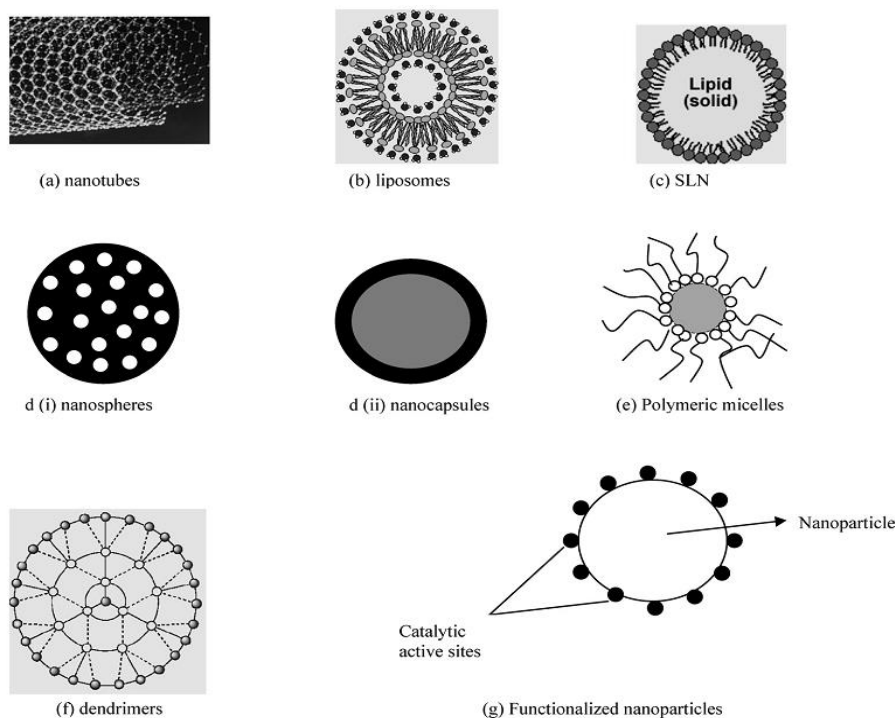
9. Misel polimerik

Misel polimerik merupakan copolimer blok amphiphilic seperti Pluronic (copolimer blok polyoxyethylene polyoxypropylene) yang berasosiasi dengan larutan air yang membentuk misel. Hal ini ditandai berdasarkan ukuran dan sifat permukaan. Misel polimer memberikan sejumlah keunggulan dalam hal stabilitas termodinamika. Konjugasi dengan ligan seperti antibodi dapat meningkatkan potensi penargetan misel. Immunomicelles merupakan suatu pendekatan antibodi terkonjugasi misel polimer yang mengandung obat anti tumor, sehingga efektif dalam pengiriman menuju area tumor. Pengahntaran obat lain menggunakan nanopartikel hidrogel juga dapat menurunkan toksisitas.

10. Dendrimer

Dendrimers merupakan rangkain makromolekul dari cabang yang berada di sekitar inti dalam yang ukuran dan bentuknya dapat diubah sesuai keinginan. Hal Ini mewakili kelas unik polimer yang dibuat dari monomer menggunakan konvergen atau divergen polimerisasi. Dendrimer dibuat dari monomer tipe AB_n, yang setiap lapisan atau generasi unit percabangan berlipat ganda atau tiga kali lipat

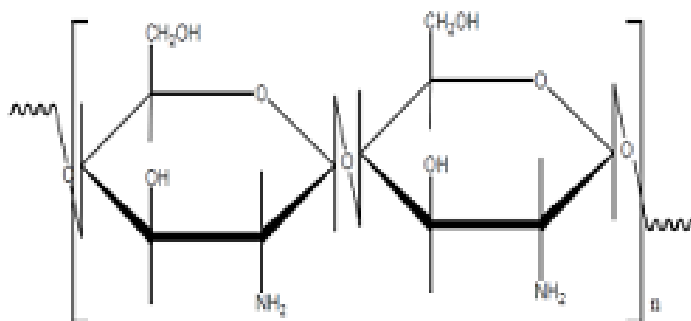
(n2, n3) jumlah grup fungsional perifer. Umumnya selama pembentukan dendrimer, molekul berasal dari inti dan membentuk seperti pohon, mereka bercabang dengan setiap unit percabangan berikutnya yang disebut sebagai generasi. Molekul obat dapat dimuat baik pada bagian interior, diabsorpsi atau hanya pada permukaan. Dendrimers terdiri dari berbagai jenis polimer seperti poliamidoamin (PAMAM), poli (asam L-glutamat), polietilenimina, polipropilenimin, dan polietilen glikol. Dendrimer hidrofilik cocok sebagai bahan pelapis perlindungan dan pengiriman obat ke tempat tertentu, sehingga meminimalkan toksisitas obat. Dendrimer poliamidoamin telah menunjukkan keberhasilan transfeksi gen dan efisiensi transeptelial.



Gambar 2.4 Tipe- tipe *Nanocarrier* atau Nanopartikel sebagai Sistem Penghantar Obat (Rawat, *et al.* 2006).

2.6.1 Nanopartikel Kitosan

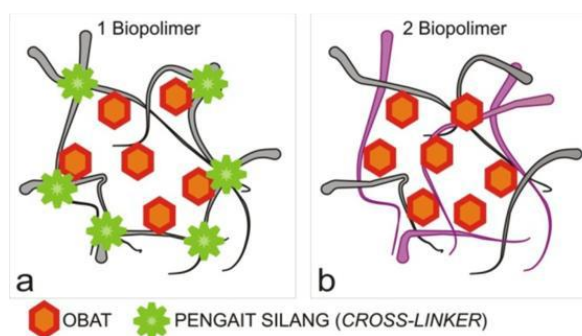
Kitosan merupakan poli-(2-amino-2-deoksi- β (1-4)-D-glukopiranososa) yang dalam rumus molekul $(C_6H_{11}NO_4)_n$ hasil dari proses deasetilasi alkalin dari kitin (Gambar 2.5). Kitin merupakan bahan organik yang melimpah dengan jumlah terbanyak kedua setelah selulosa. Kitin diperoleh dari eksoskeleton hewan krustasea, moluska, dan serangga (Sugita, 2009). Selain itu, kitin juga merupakan polimer fibrilar utama pada dinding sel jamur (Roberts, 1992). Ketersediaan kitosan di alam sangat melimpah. Polimer ini banyak dimanfaatkan di bidang farmasetika karena mudah terurai (*biodegradable*), tidak beracun dan dapat diterima oleh tubuh atau biokompatibel (Kaban, dkk. 2006).



Gambar 2.5 Destilasi Kitin Menjadi Kitosan (Sugita, 2009).

Nanopartikel kitosan disintesis melalui metode gelasi ionik dengan sodium triphosphate (TPP) sebagai polianion (De Paz *et al.* 2011). Kitosan banyak dipilih sebagai bahan pengkelat nanopartikel dikarenakan mengandung nitrogen tinggi (6,89%) (Rabea *et al.*, 2003). Nanopartikel kitosan melalui metode gelasi ionik menggunakan proses ikat silang (*cross-linking*). Proses tersebut melibatkan interaksi antara molekul kitosan (polikation) dan tripolifosfat (polianion) (Koukaras *et al.*, 2012). Proses terjadinya nanopartikel melalui metode gelasi ionik terdapat 2

jenis yakni sistem 1 biopolimer dan 2 biopolimer. Sistem 1 biopolimer memiliki muatan yang berbeda dengan obat yang terserap, sedangkan sistem 2 biopolimer memiliki gugus dengan sifat yang berbeda sehingga obat dapat terserap dalam polimer (Gambar 2.6) (Martien, dkk. 2012).

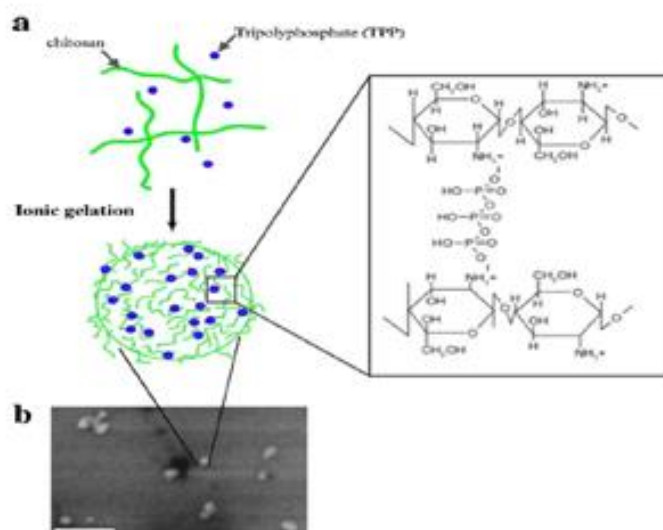


Gambar 2.6 Sistem Biopolimer Metode Gelasi Ionik dalam Menyerap Obat (Martien, dkk. 2012).

Glasi ionic merupakan metode yang digunakan untuk membuat nanopartikel kitosan. Kitosan dilarutkan dalam pH asam yang bertujuan untuk merubah gugus amina $-(NH_2)$ menjadi terionisasi positif $-(NH_3^+)$. Setelah gugus amina terionisasi positif maka akan membentuk interaksi ionik dengan obat yang diantarkan dengan muatan negatif (Bhumkar dan Pokharkar, 2006). Pembuatan nanopartikel dengan metode ini memiliki kelemahan yaitu stabilitasnya yang sangat dipengaruhi oleh tingkat keasaman, terutama dari variasi pH yang akan mempengaruhi ionisasi kitosan yang pada akhirnya akan mempengaruhi kekuatan ikatan kompleks nanopartikel (Lopez *et al.*, 2005).

Keuntungan menggunakan nanopartikel kitosan yakni tergolong polimer mukoadesif alami bersifat biokompatibel, toksisitas rendah dan *biodegradable*. Partikel ini dapat menghantarkan bahan terapeutik seperti peptida, protein, vaksin, DNA, dan obat-obatan menuju target pengobatan baik melalui parenteral maupun

nonparenteral. Selain itu, nanopartikel kitosan bersifat lebih stabil, permeabel, dan bioaktif (Ahmed & Aljaeid, 2016). Hal ini dikarenakan proses ikatan silang (*cross link*) antara oligomer kitosan dengan polianion tripolifosfat menghasilkan stabilitas ikatan yang kuat (Koukaras, *et al.* 2012) (Gambar 2.7).



Gambar 2.7 Formasi Kitosan Tripolifosfat Kompleks Melalui Metode Gelasi Ionotropik (a.) Skema Dari Kompleks Kitosan TPP Membentuk Ikatan yang kuat dan (b.) Gambar AEM, ukuran 200nm (De Paz *et al.*, 2011)

2.7 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan model laboratorium yang berasal hasil domestikasi mencit liar dan banyak digunakan sebagai hewan percobaan dalam sebuah penelitian. Mencit adalah hewan mamalia yang memiliki fisiologi organ yang hampir sama dengan manusia, siklus hidupnya pendek, jumlah anak banyak dalam sekali masa kehamilan, dan mudah penanganannya (Moriwaki *et al.*, 1994). Hewan ini mempunyai siklus estrus yang lebih dari dua kali dalam setahun atau biasa disebut hewan poliestrus. Siklus estrus pada mencit dapat terjadi dalam rentan waktu 4 sampai 5 hari sekali. Pada mencit betina memiliki kelenjar mammae

yang terletak berpasangan yaitu 3 pasang pada bagian abdomen dan 2 pasang pada inguinal (Malole dan Pramono, 1989).



Gambar 2.8 Mencit (*Mus musculus*) (Akbar, 2010)

Mencit merupakan hewan omnivora alami yang memiliki kondisi sehat, kuat, kecil dan jinak. Morfologi luar tubuh mencit adalah memiliki rambut penutup tubuh yang pendek dan berwarna putih, mempunyai ekor yang lebih panjang dari panjang tubuh dengan warna merah muda. Bobot mencit dewasa umur 2-3 bulan memiliki berat rata-rata 18 – 35 gr. Rentan hidup mencit cukup singkat yaitu kurang lebih hanya 1-2 tahun dengan masa dapat melakukan reproduksi hingga umur 1,5 tahun. Proses perkawinan pada mencit dapat dilakukan di usia 8 minggu dengan masa kehamilan 19-20 hari. Setiap melahirkan rata-rata anakan dari satu indukan betina mencapai 6-15 (Akbar, 2010). Kondisi kandang untuk pemeliharaan mencit harus dalam kondisi kering dan bersih dengan kelembaban udara 30-70%. Mencit mempunyai sifat biologis lain yang disajikan pada Tabel 2.1

Tabel 1. Sifat Biologis Mencit (*Mus musculus* L.)

Kriteria	Keterangan
Lama hidup	1-3 tahun
Lama produksi ekonomis	9 bulan
Lama bunting	19-21 hari
Kawin sesudah beranak	19-24 jam
Umur sapih	21 hari
Umur dewasa kelamin	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Siklus estrus	4-5 hari
Lama estrus	12-14 jam
Berat dewasa jantan	20-40 g
Berat dewasa betina	18-35 g
Berat lahir	0,5-1,0 g
Berat sapih	18-20 g
Jumlah anak lahir	6-15 ekor
Jumlah putting susu	5 pasang
Kecepatan tumbuh	1g/hari

Sumber: Smith dan Mangkoewidjojo (1988)

Allah SWT telah berfirman tentang penggunaan hewan untuk dimanfaatkan manusia yang salah satunya digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian yaitu dala Al-Qur'an surat An-Nahl ayat 5 :

وَالْأَنْعَامَ خَلَقَهَا لَكُمْ فِيهَا دِفْءٌ وَمَنَافِعُ وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ ﴿٥﴾

Artinya : *Dan hewan ternak telah diciptakan-Nya, untuk kamu padanya ada (bulu) yang menghangatkan dan berbagai manfaat, dan sebagiannya kamu makan (Q.S. An-Nahl [16] : 5*

Berdasarkan Tafsir Jalalain dijelaskan bahwa penciptaan hewan-hewan ternak adalah untuk manusia yang darinya dapat diambil manfaat seperti kehangatan yaitu pada bulu dan kulit yang dapat dibuat pakaian dan selimut.

Kemudian diambil juga keturunanan (anak-anaknya), air susunya, dapat dijadikan kendaraan dan sebagiannya dimanfaatkan untuk dikonsumsi. Menurut Al- Asyqar dalam kitab Zubdatut Tafsir min Fath Al-Qadir menerangkan bahwa “وَمَنَافِعُ” berarti memiliki berbagai manfaat lain yaitu dapat dijadikan tunggangan, pengangkut, yang darinya Allah memberikan nikmat kepada manusia dengan menundukan hewan-hewan tersebut untuk dimanfaatkan.

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam hewan untuk manusia yang bertujuan agar manusia bisa mendapat manfaat dan pelajaran darinya. Salah satu hewan yang dapat dimanfaatkan adalah mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan percobaan (model) dalam sebuah penelitian. Hewan percobaan merupakan hewan laboratorium yang di pelihara untuk model pengujian penelitian yang mencakup tentang ilmu sains dan kesehatan sebelum diujikan ke manusia.

Penggunaan hewan sebagai hewan percobaan harus tetap memperhatikan ethical clearance terhadap hewan tersebut. Rasulullah SAW memerintahkan agar memperlakukan hewan dengan baik yaitu dalam hadits Riwayat Muslim, At-Tirmidzi, An-Nasai Abu Daud dan Ahmad yang berbunyi :

إِنَّ اللَّهَ كَتَبَ الْإِحْسَانَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ. فَإِذَا قَتَلْتُمْ فَأَحْسِنُوا الْقِتْلَةَ، وَإِذَا ذَبَحْتُمْ فَأَحْسِنُوا الذَّبْحَةَ،
وَلْيُجِدْ أَحَدُكُمْ شَفْرَتَهُ، وَلْيُرْخِ ذَبِيحَتَهُ

Artinya : *Sesungguhnya Allah mewajibkan berbuat baik kepada segala hal. Oleh karena itu, jika kalian membunuh, maka bunuhlah dengan baik. Jika kalian menyembelih, maka sembelihlah dengan baik. Hendaklah salah seorang dan kalian menenangkan hewan yang akan disembeluhnya, dan menajamkan pisaunya, (Diriwayatkan Muslim, At Tirmidzi, An-Nasai, Abu Daud, dan Ahmad).*

2.8 Uterus

2.8.1 Anatomi Uterus

Uterus merupakan salah satu organ dalam sistem reproduksi yang letaknya berada diantara kandung kemih dan rektum. Fungsi dari organ ini adalah sebagai tempat implantasi dan perkembangan ovum setelah melakukan pembuahan. Tipe uterus pada hewan rodentia adalah duplek yaitu terdapat dua serviks, tidak memiliki korpus uteri dan letaknya terpisah membentuk seperti huruf Y (Partodiharjo, 1988). Pada bagian ujung uterus terdapat oviduk pendek yang menghubungkan uterus dengan ovarium (Cavalcanto, 2007).

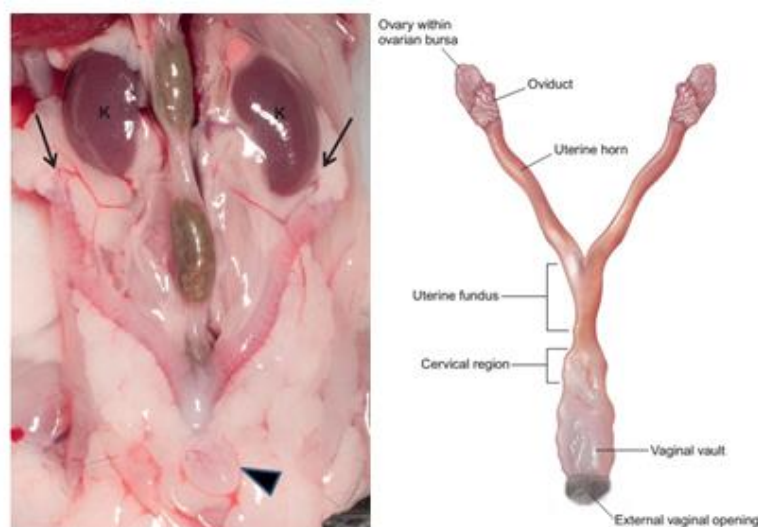
Allah SWT telah menjelaskan mengenai organ uterus yaitu dalam Al-Qur'an Surat Al Mursalat ayat 20 - 21 :

﴿٢١﴾ أَلَمْ نَخْلُقْكُمْ مِنْ مَّاءٍ مَّهِينٍ ﴿٢٠﴾ فَجَعَلْنَاهُ فِي قَرَارٍ مَّكِينٍ

Artinya : “Bukankah Kami menciptakan kamu dari air yang hina? kemudian Kami letakkan dia dalam tempat yang kokoh (rahim)” (QS: Al-Mursalat [77] : 20-21).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa dalam kalimat “*Kami letakkan dia dalam tempat yang kokoh (rahim)*” kalimat tersebut menjelaskan bahwa ovum yang telah dibuahi sperma dikumpulkan atau diletakkan di dalam rahim. Rahim memang merupakan tempat yang disediakan untuk menjaga zigot. Menurut Syaikh Abdurrahman bin Nashir as-Sa'di قَرَارٍ مَّكِينٍ bermakna tempat yang kokoh yang berfungsi untuk itu air mani dan ovum bertemu, menetap dan tumbuh, “sampai waktu yang ditentukan,” dan saat yang telah ditetapkan, “lalu Kami tentukan (bentuknya),” yakni Kami tentukan dan atur janin itu didalam kegelapan-kegelapan dan Kami rubah dari nutfah menjadi segumpal darah kemudian menjadi segumpal daging hingga Allah menjadikannya jasad dan meniupkan ruh padanya.

Uterus dengan tipe dupleks dapat ditemukan pada kelici atau pada beberapa jenis rodentia kecil seperti tikus atau mencit. Tipe uterus dupleks memiliki dua serviks dengan tanduk kecil yang bermuara pada caudal dan dua serviks tersebut bergabung pada batas vagina (Hunter, 1995). Letak uterus yaitu menempel di ligamen luar abdomen dan pelvis. Sistem persyarafan dan peredaran darah berada pada ligament dengan posisi menyelimuti seluruh organ uterus (Partodiharjo, 1992).



Gambar 2.9 Anatomi Organ Uterus Mencit (Rendi *et al.*, 2016).

2.8.2 Histologi Uterus

Uterus memiliki struktur organ yang terbagi atas tiga struktur lapisan yaitu endometrium, miometrium dan perimetrium (Yatim, 1996). Lapisan paling dalam dari organ uterus adalah endometrium yang tersusun atas lapisan mukosa, jaringan ikat dan sel-sel kelenjar. Selanjutnya pada bagian tengah adalah lapisan miometrium yang disusun dari 3 lapis otot polos yaitu dalam ke luar adalah serabut otot polos yang tersusun sirkular, kemudian bagian tengah tersusun atas pembuluh darah vaskuler dan serabut syaraf dan pada bagian dalam tersusun atas serabut otot

polos yang terusun secara longitudinal. Kemudian pada bagian terluar uterus atau perimetrium tersusun atas jaringan epitel tipis yang menyelubungi bagian uterus yang langsung berhubungan dengan peritoneum (Yatim, 1994).

Lapisan endometrium tersusun atas dua jenis yaitu lapisan fungsional atau superfisial, dimana pada lapisan ini terdapat aktivitas regenerasi dan degenerasi sel. Lapisan selanjutnya lapisan basal yang pada lapisan ini tidak mengalami degenerasi sel atau akan tetap terus bertahan pada seluruh siklus reproduksi. Lapisan endometrium memiliki sifat sangat responsif terhadap perubahan hormonal yang terjadi dalam tubuh, sehingga pengaruh hormonal akan sangat mempengaruhi struktur lapisan dari endometrium. Lapisan miometrium sebagian besar tersusun dari jaringan otot sehingga akan memudahkan dalam kontraksi dan relaksasi rahim dan pada lapisan ini juga terdapat banyak lendir dan pembuluh darah. Selanjutnya pada lapisan terluar adalah lapisan perimetrium yang tersusun atas jaringan ikat longgar (Dellman dan Brown, 1992).

Tunika mucosa atau endometrium merupakan lapisan yang tersusun atas lamina propria dan jaringan epitel. Sel epitel bersilia memiliki peranan untuk menggerakkan atau menghantarkan spermatozoa ke tuba falopii untuk melakukan pembuahan sel ovum. Kemudian sel epitel sekretori berperan dalam menghasilkan sekret untuk media silia agar berfungsi optimal dan dalam lendir tersebut mengandung bahan kapasitas bagi spermatozoa, sehingga akan lancar melanjutkan pembuahan terhadap ovum di infundibulum (Yatim, 1990).

Fungsi utama dari sel penggetah atau sekretori adalah akan melapisi seluruh bagian endometrium, sehingga endometrium akan melakukan penebalan karena bentuk dari sel sekretori ini adalah berbentuk tubular. Pengaruh hormonal akan

sangat berpengaruh pada struktur dan fungsi mikroskopik endometrium terutama dari pengaruh hormonal ovarium. Suasana hormonal pada ovarium semasa ovulasi akan menyebabkan uterus menjadi dominan hormon progesteron yang sebelumnya dominan hormon estrogen (Heffiner & Schust, 2006).

Miometrium atau tunica muscularis adalah lapisan penyusun pada uterus yang terletak dibawah lapisan tunica mucosa. Lapisan ini tersusun atas jaringan otot polos dan sedikit jaringan ikat. Pada lapisan miometrium terbagi atas 4 sublapisan yaitu stratum submucosum, stratum vasculare, stratum supravasculare dan stratum suberosum. Stratum submucosum merupakan lapisan yang berbatasan dengan endometrium yang tersusun atas jaringan ikat dan otot polos yang terletak longitudinal namun ada beberapa yang terletak miring dan sirkuler (Yatim, 1990).

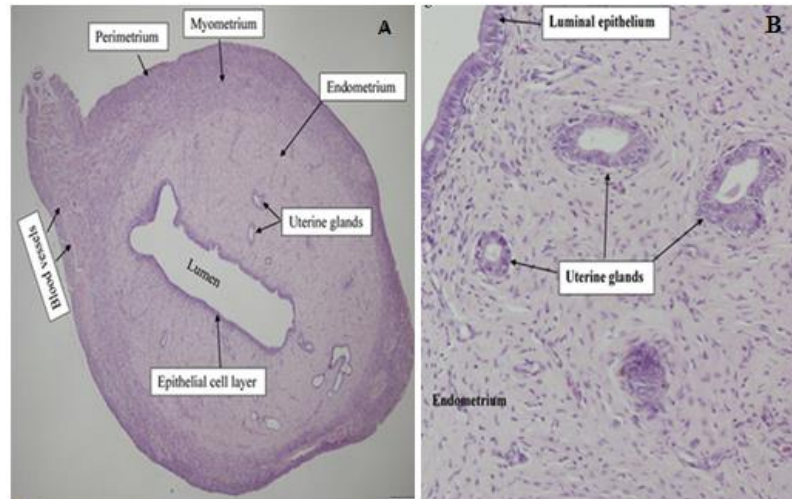
Kontraksi yang terjadi pada uterus pada saat siklus menstruasi dan kehamilan merupakan aktivitas yang banyak dipengaruhi oleh lapisan miometrium. Kontraksi yang terjadi memiliki fungsi untuk menghantarkan spermatozoa dengan mekanisme mengayunkan atau menghisap menuju ke infundibulum, meluruhkan embrio, plasenta dan lapisan fungsionalis pada masa keguguran, melahirkan maupun fase menstruasi (Yatim, 1996).

Perimetrium atau disebut tunica serosa merupakan lapisan terluar dari uterus yang tersusun dari serat kolagen dan retikulusa. Lapisan paling luar dilapisi oleh mesotel yang merupakan penerusan dari peritoneum (Yatim, 1990). Lapisan peritoneum merupakan lapisan yang membungkus uterus. Pada lapisan perimetrium juga banyak terdapat pembuluh darah, pembuluh limfe dan serabut saraf (Cicilia, 2013).

Implantasi zigot pada uterus sangat dipengaruhi oleh mikroanatomi dari uterus tersebut. Faktor ketebalan lapisan endometrium dan miometrium uterus akan berpengaruh pada implantasi dan perkembangan zigot. Kontraksi yang terjadi pada uterus sangat dipengaruhi oleh miometrium, karena pada lapisan tersebut merupakan lapisan paling tebal yang mengandung banyak pembuluh darah dan sistem syaraf (Rusmiati, 2010).

Faktor hormonal merupakan faktor utama yang mempengaruhi struktur mikroanatomi uterus. Salah satu hormon yang berpengaruh adalah hormon estrogen yang menyebabkan endometrium mengalami proliferasi sehingga meningkatkan nutrisi pada endometrium dalam bentuk peningkatan jumlah sel sekretorik yang berfungsi menutrisi ovum yang telah dibuahi untuk berimplantasi di dinding endometrium (Guyton, 1995). Pada saat proliferasi jumlah sel sekretorik dan cairan edema akan meningkat sehingga tebal lapisan endometrium akan meningkat. Mekanisme penbalan yang terjadi adalah karena ada aktivitas hipertrofi yang disebabkan karena berkumpulnya hasil sekresi sel kelenjar dalam jumlah yang besar sehingga mengakibatkan lumen menjadi lebar karena terisi sekret dan bentuk sel sekret menjadi berkelok-kelok (Agustini, 2007).

Kelenjar yang berada pada lapisan endometrium memiliki peranan yang sangat penting. Kelenjar tersebut dibentuk dari proses invaginasi epitel silindris. Struktur dari sel kelenjar ini adalah berbentuk silindris yang relatif pendek dan berkelok-kelok tergantung pada masa siklus yang terjadi. (Partodiharjo, 1992).



Gambar 2.10 Struktur Histologi Uterus Pewarnaan Hematoxilin-Eosin (Alchalabi, 2016).

2.8.3 Fisiologi Uterus

Uterus merupakan organ yang memiliki sifat elastis atau dapat mengembang karena beberapa faktor yang diantaranya adalah adanya siklus birahi dan kehamilan (Partodiharjo, 1992). Siklus yang terjadi pada uterus pada awalnya adalah berfungsi menyiapkan penerimaan spermatozoa untuk melakukan pembuahan terhadap ovum yang dimulai penetrasi pada serviks yang kemudian menuju ke oviduk. Apabila fertilisasi antara ovum dan sperma terjadi maka uterus akan berfungsi sebagai tempat menempelnya zigot yang selanjutnya akan terjadi pertumbuhan dan perkembangan sampai masa melahirkan (Agustini, 2007).

Aktivitas ovarium dalam memproduksi sel telur dan sel folikel akan berpengaruh pada bentuk morfologi dari uterus. Pada saat ovarium melepaskan sel telur atau ovulasi, endometrium akan melakukan aktivitas proliferasi yang bertujuan untuk mempersiapkan dinding endometrium menerima implantasi dari sel telur yang dibuahi oleh sperma (Yatim, 1996). Apabila fertilisasi tidak terjadi maka akan terjadi menstruasi atau uterus melakukan atropi (Sonjaya, 2012).

Fase perkembangan yang terjadi pada uterus terbagi atas dua jenis yaitu fase proliferasi dan sekresi yang keduanya ditunjukkan dengan tebal lapisan endometrium. Pada fase proliferasi menunjukkan peningkatan ketebalan pada lapisan endometrium. Aktivitas ini terjadi pada masa siklus diestrus sampai estrus. Peningkatan tebal lapisan ini juga diiringi dengan peningkatan jumlah hormon estradiol dalam darah. Fase selanjutnya adalah fase sekresi yang terjadi pada masa siklus matestrus sampai diestrus dimana pada siklus ini endometrium akan meregulasi hormon progesterone dalam darah dengan melakukan sekresi kelenjar (Agustini, 2007). Pada fase diestrus sel telur tidak dibuahi oleh sperma sehingga sel telur akan mati dan diresorpsi oleh endometrium. Setelah melakukan resorpsi pada fase diestrus masih terjadi pertumbuhan dan perkembangan sel epitel kelenjar menjadi bentuk yang berkelok-kelok. Namun pada fase petengahan dari fase diestrus akan berdegenerasi atau luruh hingga tersisa lapisan permukaan saja (Partodihardjo, 1992).

Fase estrus terjadi saat folikel diproduksi dalam jumlah yang maksimal. Pada fase estrus ovum telah siap dibuahi oleh sperma sehingga betina siap melakukan kopulasi atau perkawinan. Pada fase lapisan endometrium akan menebal dan kelenjar akan memanjang dengan posisi mengarah ke bawah dan menghasilkan sekret dalam jumlah yang relatif besar untuk mempersiapkan nutrisi bagi ovum dan sperma. Kelenjar yang dihasilkan untuk sperma berfungsi untuk kapsitasi spermatozoa sebelum melakukan pembuahan terhadap ovum. Setelah fase estrus akan dilanjutkan fase matestrus yaitu akan terjadi perkembangan sel kelenjar endometrium menjadi panjang dan berkelok (Partodihardjo, 1992).

2.9 Mekanisme Senyawa Aktif Bawang Putih, Jeringau dan Temu Mangga terhadap Histologi Uterus

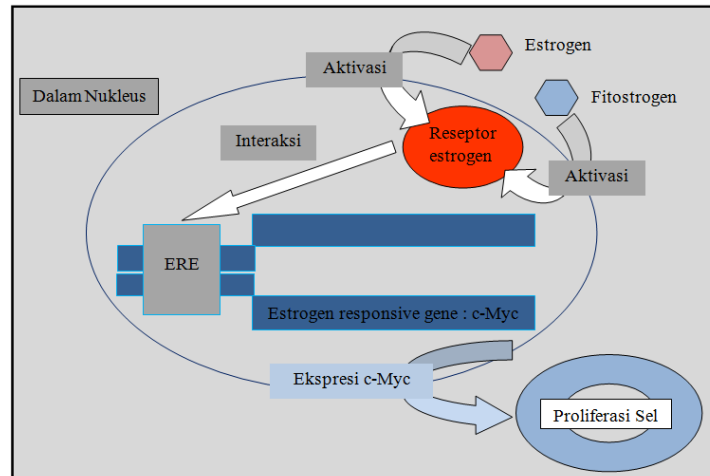
Kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau mempunyai manfaat sebagai regenerasi maupun terapi pada kerusakan organ karena mengandung senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan yang terdapat pada kombinasi ketiga tumbuhan tersebut adalah berasal dari senyawa senyawa steroids, fenol, tannin, flavonoid, glikosida, diterpene, triterpen dan alkaloid pada jeringau (Barua, 2014), kemudian flavonoid, glikosida, diterpene, triterpen dan alkaloid pada bawang putih (Gazuwa, 2013) dan juga adanya terpenoid sebagai senyawa utama yang terdapat pada temu mangga (Tarigan, 2008). Jumlah senyawa aktif yang paling banyak pada kombinasi ketiga tanaman tersebut adalah flavonoid dan alkaloid yang mempunyai manfaat sebagai senyawa antioksidan (Jannah, 2017).

Kandungan senyawa antioksidan dalam tubuh berfungsi untuk melindungi dari radikal bebas yang masuk dan juga sebagai pemeliharaan kesehatan (Art, *et al* 2004). Jumlah kandungan antioksidan dalam tubuh harus mengimbangi jumlah paparan radikal bebas, hal ini dikarenakan agar fungsi fisiologi tubuh tetap berjalan normal dengan mencegah terjadinya stres oksidatif (Kumar, 2013). Senyawa turunan flavonoid dapat berfungsi sebagai hormon fitoestrogen dalam tubuh yang fungsinya dapat memicu proliferasi sel yang dalam kaitan reproduksi akan meningkatkan tebal lapisan uterus maupun jumlah kelenjar yang akan mensekresikan sekret yang berfungsi untuk nutrisi sperma dan ovum.

Senyawa aktif utama yang terdapat pada tiga tanaman tersebut berdasarkan hasil uji fitokimia adalah senyawa alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan isoflavon (Muchtaromah, 2017). Senyawa isoflavon tersebut dapat berfungsi sebagai

senyawa fitoestrogen yang berfungsi memicu pembentukan estrogen pada mamalia dan memiliki kemiripan struktur dengan estrogen yang dihasilkan tubuh. Senyawa isoflavon merupakan senyawa yang paling banyak dihasilkan oleh tumbuhan yang memiliki aktivitas estrogenik yang dapat ditransformasikan menjadi equol. Equol merupakan struktur fenolik yang memiliki kemiripan dengan hormon estrogen tubuh. Senyawa isoflavon juga memiliki gugus OH yang mempunyai struktur penyusun mirip dengan hormon estradiol (Hermawati, 2014). Senyawa fitoestrogen memiliki dua gugus hidroksi (OH) yang berjarak 11,0-11,5 Å, yang menyerupai estrogen. Jarak 11 Å dan gugus hidroksil inilah yang merupakan struktur pokok suatu substrat agar memiliki efek estrogenik, sehingga mampu membentuk ikatan dengan reseptor estrogen (Sitasiwi, 2008).

Senyawa yang terkandung dalam kombinasi tiga tanaman tersebut yakni triterpenoid dan flavonoid akan bekerja dalam meningkatkan tebal lapisan uterus melalui mekanisme aksi yang mirip dengan estrogen endogen. Senyawa turunan fitoestrogen tersebut akan menduduki reseptor hormon estrogen target sehingga akan memicu aktivitas pengikatan fitoestrogen oleh reseptor estrogen tubuh sehingga dapat menempati situs pengikatan (*site binding*) EREs (*Estrogen Response Element*) pada rantai DNA di nukleus. Hasil interaksi pengikatan EREs dengan senyawa fitoestrogen tersebut akan menghasilkan respon gen (*ekspresi estrogen responsive gen*) yaitu protein c-Myc yang berfungsi untuk meningkatkan daur sel dan proses proliferasi sel-sel penyusun organ uterus melalui jalur klasik signal transduksi estrogen pada gambar 2.11 (Cooke, 1998)



Gambar 2.11 Jalur Klasik Signal Transduksi Estrogen (*genomic action*) (Cooke, 1998).

Senyawa ginestein yang merupakan senyawa turunan fitoestrogen isoflavon pada bawang putih terbukti memiliki kemampuan dalam meningkatkan hormon adenokortikotropik dan luteinizing hormon (Prawiroharsono, 1998). Senyawa ginestein bekerja dengan mekanisme SERMs (*Selective Estrogen Receptor Modulator*) dengan melakukan ikatan antara estrogen alfa ($ER\alpha$) dan estrogen beta ($ER\beta$) yang mempunyai aktifitas estrogenik ataupun antiestrogenik (Khairiah, 2012).

Mekanisme yang terjadi pada uterus sebagai efek dari aktivitas estrogenik senyawa isoflavon dapat melalui interaksi pengikatan dengan reseptor ataupun melalui *Indirect Receptor Dependent* yaitu dengan cara mempengaruhi jumlah estrogen endogen dalam darah. Salah satu caranya adalah dengan meningkatkan produksi *gonadotropin releasing hormon* (GnRH) yang juga akan memicu peningkatan sekresi *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Selanjutnya disusul terjadinya steroidogenesis dan folikulogenesis di

ovarium, dan memicu pertumbuhan folikel serta peningkatan jumlah estrogen dalam darah (Safithri, 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini termasuk penelitian eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas lima perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan yang dilakukan adalah mencit kontrol normal negatif (K), mencit normal yang diberi perlakuan kломifen sitrat (P1), mencit normal yang diberi perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu manga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamaus*) dosis 25 mg/kgBB (P2), dosis 50 mg/kgBB (P3) dan mencit normal yang diberi perlakuan jamu subur kandungan dosis 75 mg/kgBB (P4).

3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah:

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah mencit kontrol negatif (K) (Aquades), P1 (klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kg BB), P2 (nanopartikel dosis 25 mg/kg BB), P3 (nanopartikel dosis 50 mg/kg BB) dan P4 (jamu subur kandungan jokotole dosis 75 mg/kg BB).

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi pengukuran ketebalan lapisan endometrium endometrium, miometrium, perimetrium dan menghitung jumlah kelenjar pada endometrium (*Mus musculus*).

3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) betina normal galur Balb-C, usia $\pm$ 2-3 bulan dengan berat $\pm$ 20-25 gr, dan pakan BR 1

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juli-September 2020 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Hewan Coba Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Farmasetika Universitas Ma Chung Malang.

3.4 Populasi Sampel Penelitian

Sampel mencit yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus $(t-1)(n-1) \geq 15$ (Supranto, 2000) :

n = perlakuan

t = ulangan

Diketahui : t = 5

Dijawab : $(5-1)(n-1) \geq 15$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75 = 5$$

Jumlah mencit = 5 x 5 = 25 ekor

Berdasarkan hasil perhitungan diketahui bahwa jumlah mencit (*Mus musculus*) yang dibutuhkan adalah 25 ekor mencit betina umur $\pm$ 2-3 bulan dengan bobot $\pm$ 20 - 25 gr.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

Berikut adalah alat yang digunakan dalam penelitian ini, untuk ekstraksi dan sintesis nanopartikel meliputi incubator (Mettler Un-55), Sentrifuge (Thermo Scientific Heraeus Labokuge 200), Hot plate (Thermolyne), sonicator (Cole Pamer CV188), homogenizer (IKA T-25 Ultra Turtax), rotary vacuum evaporator, deep freezer (Thermo), timbangan analitik, gelas beaker (IWAKI), kertas saring, pipet, spatula, stirrer, botol flakon, ependorf 15 ml, kertas label, mortar dan alu. Alat yang digunakan dalam perlakuan hewan coba adalah seperangkat kandang, wadah pakan, wadah minum, sonde lambung, spuit, pipet tetes, object glass, seperangkat alat bedah, botol sampel dan mikroskop.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini untuk ekstraksi dan sintesis nanopartikel adalah 100 gr simplisia bawang putih (*Allium sativum*), 100 gr temu mangga (*Curcuma mangga*) dan 100 gr simplisia jeingau (*Acorus calamus*), ethanol 70 %, Tripolifosfat (TPP), Tween 80, asam asetat glasial (AAG), dan kitosan. Bahan yang digunakan untuk hewan coba meliputi klomifen sitrat (Profertile), Aquades, jamu subur kandungan (Jokotole), NaCl 0,9 %, giemsa (Sigma-Aldrich), Alkohol 70 %, 80%, 90%, absolut, hematoxilin (Sigma-Aldrich), eosin (Sigma-Aldrich) dan Xylol.

3.6 Kegiatan Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Persiapan hewan coba dimulai dengan mempersiapkan seperangkat kebutuhan kandang yang meliputi kandang yang terbuat dari bak blastik dengan penutup kawat ram, wadah pakan, wadah minum dan sekam sebagai alas. Sebelum diberi perlakuan hewan coba diaklimatisasi selama 2 minggu dengan pemberian pakan BR 1.

3.6.2 Pembagian Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan dibagi menjadi lima perlakuan dan lima ulangan, yang masing-masing perlakuan digunakan aquades sebagai pelarut :

1. Kelompok 1 (Perlakuan kontrol negatif / K) mencit normal yang disonde aquades dosis 0,5 ml / hari
2. Kelompok 2 (Perlakuan 1 / P1) mencit normal yang disonde klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kgBB
3. Kelompok 3 (Perlakuan 2 / P2) mencit normal yang disonde nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 25 mg/kgBB
4. Kelompok 4 (Perlakuan 3 / P3) mencit normal yang disonde nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 50 mg/kgBB
5. Kelompok 5 (Perlakuan 4 / P4) mencit normal yang disonde jamu subur kandungan dosis 75 mg/kgBB.

3.6.3 Preparasi Sampel Tumbuhan

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi perbandingan 1 : 4. Komposisi ekstraksi terdiri dari 36 gr simplisia bawang putih, 36 gr temu mangga dan 28 gr jeringau dimasukkan ke dalam gelas beaker. Selanjutnya digunakan

pelarut etanol 70 % sebanyak 300 ml dalam 100 gr simplisia. Larutan tersebut diaduk dan didiamkan dalam waktu 24 jam. Kemudian maserat disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya ampas hasil penyaringan pertama direndam kembali dengan etanol dengan perbandingan yang sama setiap pengulangan sebanyak 3 kali penyaringan. Selanjutnya pengambilan ekstrak dilakukan dengan metode *rotary vacuum evaporator* dengan digunakan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak yang pekat (Chairunnisa *et al.*, 2019)

3.6.4 Pembuatan Nanopartikel

Disiapkan 3 ml asam asetat glacial dalam 597 ml aquades. Selanjutnya ditambahkan 3 gr kitosan dan dihomogenkan. Setelah itu ditambahkan larutan STPP 0,6 gr dalam 120 ml aquades dan dihomogenizer dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,6 gram kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dihomogenizer dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 1 ml tween 80 dan dihomogenizer dengan kecepatan 10.000 rpm selama 60 menit. Larutan tersebut kemudian disonikasi pada frekuensi 20 kHz dengan amplitude 80% selama 90 menit. Setelah itu hasil sonikasi dimasukkan dalam tube ukuran 15 ml untuk disentrifugasi selama 30 menit. Dipisahkan pellet dan supernatan. Diambil pellet hasil sentrifugasi kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri untuk dianginkan dalam incubator. Setelah kering, pellet digerus dengan nitrogen cair untuk memperoleh serbuk nanopartikel (Pakki *et al.*, 2016 di modifikasi).

3.6.5 Penyerentakan Siklus Estrus

Larutkan PMSG (*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin*) 500 IU dalam aquades sebanyak 5 ml (200 IU/ml), lalu ambil 1 ml dan tambahkan 3 ml aquades

(50 IU/ml). Induksikan secara intraperitoneal pada mencit sebanyak 0,05 ml (5 IU). Untuk pembuatan larutan hCG (*Human Chorionic Gonadotropin*) 5 IU, larutkan hCG 1500 IU dalam aquades sebanyak 5 ml (300 IU/ml), ambil 1 ml lalu diencerkan dengan aquades sebanyak 5 ml (50 IU/ml). Induksikan secara intraperitoneal pada mencit sebanyak 0,05 ml (5 IU) (Martin *et al.*, 2008).

Penyerentakan dilakukan dengan cara superovulasi yaitu menginduksikan hormon PMSG (*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin*) 5 IU. Selanjutnya ditunggu hingga 48 jam lamanya kemudian di injeksikan kembali hormon HCG (*Human Chorionic Gonadotropin*) dengan dosis 5 IU, maka akan terjadi fase estrus setelah 17 jam berikutnya, dan penginjeksian ini dilakukan pada bagian intraperitoneal (Mustofa, 2006).

3.6.6 Pemeriksaan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina

Pengecekan siklus estrus, pertama membuat preparat apusan vagina, pukul 06.00-07.00 WIB dan 18.00-19.00 WIB. Pembuatan apusan dilakukan menggunakan pipet yang didalamnya terdapat larutan NaCl, pipet dimasukkan secara perlahan ke dalam vagina mencit dengan mengeluarkan larutan NaCl dan disedot kembali hingga beberapa kali ulangan. Hasilnya diteteskan pada objek glass dan tunggu sampai kering. Setelah apusan kering ditetesi apusan dengan larutan metanol 10% untuk difiksasi 3 menit. Setelah itu ditetesi apusan dengan giemsa selama 5 menit dan dibilas dengan aquades dan ditunggu sampai kering. Kemudian diamati apusan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x. Fase estrus dapat ditentukan dengan melihat perbandingan sel menanduk, sel epitel berinti, dan leukosit (Assa'idah, 2018).

3.6.7 Penentuan Dosis Jamu Subur Kandungan

Dosis perlakuan jamu subur kandungan ditentukan berdasarkan dosis aturan minum jamu subur kandungan (Jokotole) yaitu 2x sehari masing-masing 4 kapsul dengan kandung satu kapsul 500 mg sehingga dapat dihitung sebagai berikut :

Dosis pada manusia	= 500 mg x 8
	= 4000 mg/60kgBB
Dosis untuk 1 kgBB	= 4000 : 60
	= 66,67mg/kgBB
Dosis untuk 1 kgBB dibulatkan	= 75 mg/kgBB
Dosis untuk mencit $\pm$ 20 gram	= 20/1000 x 75 mg
	=1,5 mg/mencit 20 gram

3.6.8 Pemberian Perlakuan

Langkah pertama yaitu mencit diaklimatisasi selama 2 minggu, kemudian dilakukan sinkronisasi siklus estrus menggunakan PMSG dan HCG dengan dosis 5 IU. Tiga hari kemudian diberi kombinasi nanopartikel ekstrak. Kombinasi Nanopartikel ekstrak diberikan kepada mencit menggunakan metode sonde lambung. Pemberian kombinasi nanopartikel ekstrak dilakukan setiap hari selama 15 hari (3 kali siklus estrus). Diakhir penelitian mencit dibedah pada fase estrus.

3.6.9 Pembuatan Preparat Histologi

Histologi uterus dilakukan dengan menggunakan metode parafinisasi dan diwarnai dengan metode hematoxilin dan eosin. Tahapan yang dilakukan meliputi tahap fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, cutting dan pewarnaan. Fiksasi organ uterus dan oviduk dilakukan dengan derendam pada formalin 10% 2 x 24 jam. Setelah tahap fiksasi, organ uterus dan oviduk di dehidrasi pada alkohol

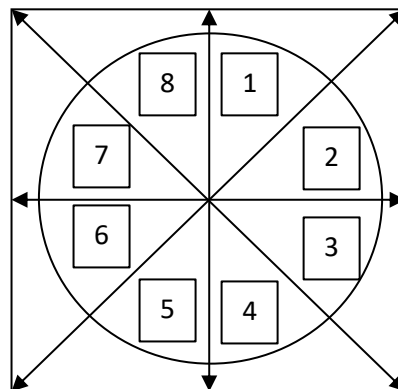
bertingkat 70 %, 80% ,90% dan alkohol absolut I dan II yang direndam selama 2 jam pada masing-masing larutan. Selanjutnya tahap clearing organ direndam dalam xilol selama 2 jam. Kemudian uterus dan oviduk di embedding atau di blok menggunakan paraffin. Tahap selanjutnya uterus dan oviduk yang telah di blok dalam parafin dilakukan pemotongan organ atau cutting menggunakan mikrotom dengan ketebalan $\pm 5\text{-}6\text{ }\mu\text{m}$. Selanjutnya sayatan diambil menggunakan objek glass kemudian sayatan yang terdapat diobjek glass dibiarkan kering selama 12 jam.

Pada tahap pewarnaan hasil potongan histologi diwarnai menggunakan metode pewarnaan Hematoxyline-Eosin. Tahap pewarnaan dilakukan dengan merendam slide pada xilol I dan II masing-masing selama 5 menit. Kemudian dipindahkan slide hitologi ke dalam alkohol absolut selama 3 menit. Selanjutnya dipindahkan slide dari alkohol absolut ke laurtan etanol bertingkat 96, 80 dan 70 % yang pada tingkatan konsentrasi masing-masing direndam dalam 3 menit. Kemudian slide dibilas menggunakan air mengalir pada running tab water sampai aroma alkohol dan xilol berkurang. Selanjutnya slide diwarnai dengan direndam pada hematoxilin 3 menit kemudian dibilas menggunakan air mengalir hingga warna air menjadi jernih. Setelah dibilas, slide direndam pada pewarna eosin selama 2 menit. Setelah dilakukan pewarnaan eosin slide direndam kembali pada laurtan alkohol 70 %, 80% dan 90% masing masing selama 3 menit. Kemudian slide dipindahkan ke dalam lautan xilol III dan IV masing-masing 5 menit dan kemudian slide ditutup dengan cover glass menggunakan entelan.

3.6.10 Pengamatan Histologi Organ

- a. Tebal Endometrium, Miometrium dan Perimetrium

Penentuan tebal endometrium, miometrium dan perimetrium dilakukan dengan cara mengamati dibawah mikroskop perbesaran 40 x. Pengukuran tebal lapisan endometrium dilakukan dengan mengukur masing-masing irisan uterus dengan ukuran titik tertinggi dan titik terendah pada 8 titik sayatan tranvesal uterus. Kemudian pada ketebalan miometrium dan perimetrium dilakukan dengan mengukur pada 8 titik sayatan tranvesal uterus. Ketebalan masing-masing lapisan diukur menggunakan *Software Image Raster* dengan satuan μm . Hasil pengukuran ketebalan lapisan pada masing-masing perlakuan di rata-rata untuk memperoleh data ketebalan pada satu perlakuan (Modifikasi Muchsin, 2009).



Gambar 3.1 Skema Cara Pengukuran Ketebalan Endometrium, Miometrium dan Perimetrium Uterus (Muchsin, 2009).

b. Pengamatan Jumlah Kelenjar Endometrium

Penentuan jumlah kelenjar endometrium dilakukan dengan cara mengamati lapisan endometrium dengan mikroskop pada perbesaran 100 x. Pengamatan dilakukan pada slide dengan mengambil empat lapang pandang. Penghitungan dilakukan menggunakan Count pada *Software Image Raster*. Jumlah kelenjar yang ditemukan pada masing-masing lapang pandang kemudian di rata-rata (Habibah, 2017).

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari tiap pelakuan dan ulangan yaitu ketebalan endometrium, miometrium dan perimetrium dan jumlah kelenjar endometrium uterus dianalisis menggunakan program SPSS. Analisis dilakukan dengan menguji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov*. Jika data yang diperoleh normal maka dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene Statistik*. Jika data sudah memenuhi uji parametrik yaitu data normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji ANOVA. jika diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf $\alpha > 0,05$.

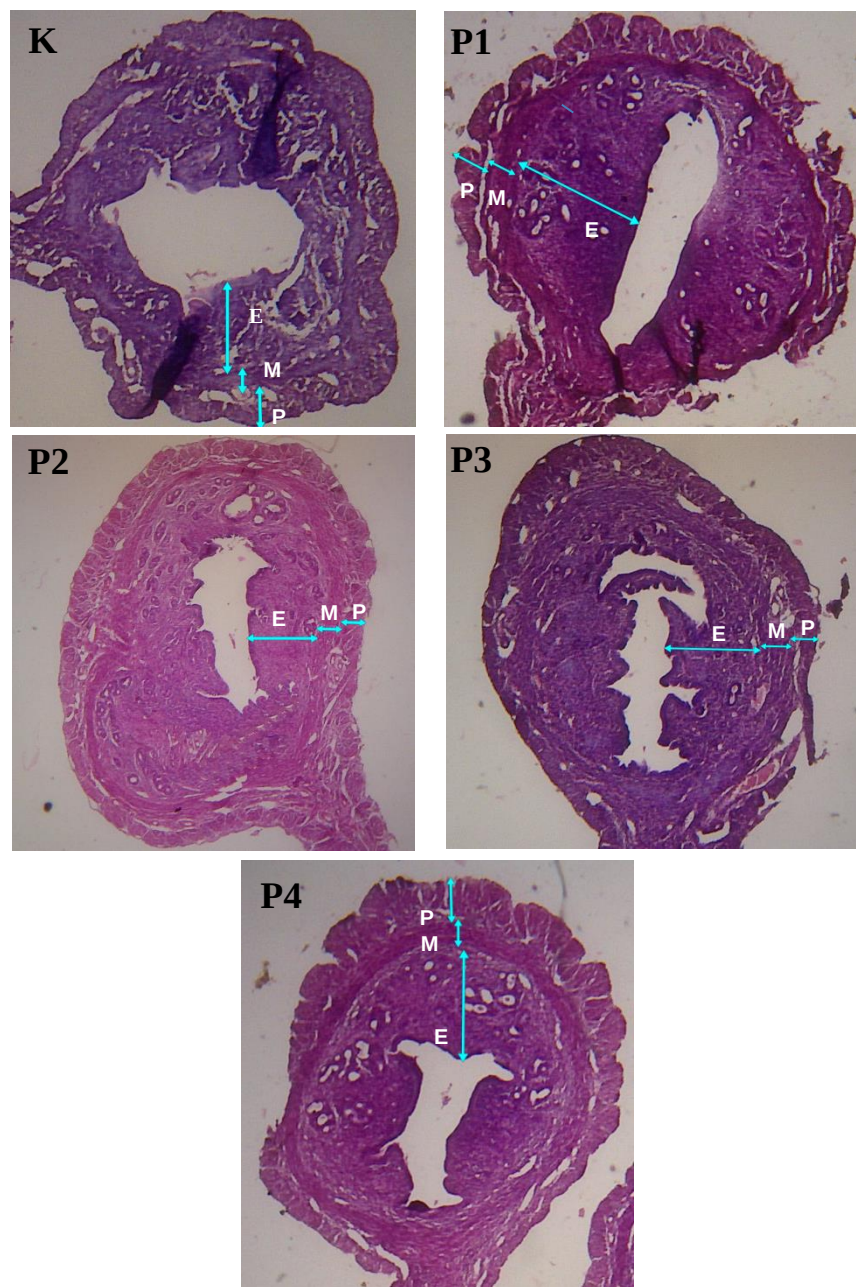
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap Ketebalan Lapisan Endometrium, Miometrium dan Perimetrium

Uterus adalah salah satu organ yang terdapat pada sistem reproduksi betina. Uterus memiliki tiga lapisan utama yang tersusun atas endometrium, miometrium dan perimetrium. Lapisan endometrium merupakan lapisan dengan dua jenis lapisan penyusun yaitu superficialis yang berfungsi dalam melakukan regenerasi serta degenerasi dan basalis yang akan tetap ada atau bertahan pada saat siklus reproduksi berlangsung dan juga merupakan lapisan yang paling responsif terhadap perubahan hormon reproduksi (Puspitadewi dan Sunarno, 2007). Lapisan miometrium adalah lapisan yang berada di bagian tengah struktur uterus yang disusun dari jaringan otot yang berfungsi dalam kontraksi organ uterus baik dalam waktu menstruasi, abortus dan melahirkan, sedangkan lapisan perimetrium merupakan lapisan yang tersusun atas jaringan ikat longgar (Rusmiati, 2011).

Data dalam penelitian ini diambil dengan mengamati preparat irisan melintang histologi uterus mencit (*Mus musculus*) sehingga diperoleh struktur mikroanatomi dari lapisan organ uterus yang meliputi tebal lapisan endometrium, miometrium dan perimetrium. Tebal masing masing lapisan tersebut diamati dengan mikroskop komputer menggunakan perbesaran 40x. Hasil pengamatan dari visualisasi ketebalan tiga lapisan tersebut pada berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Gambar irisan melintang histologi uterus mencit dengan pewarnaan *Hematoxilin-Eosin* pada perbesaran 40x. (E : Endometrium, M : Miometrium , P (Perimetrium))

Pengamatan yang dilakukan pada gambar 4.1 selanjutnya dikonfirmasi ukuran ketebalan yang meliputi ketebalan lapisan endometrium, miometrium dan

perimetrium dengan mengukur setiap lapisan menggunakan *Software Image Raster* yang disajikan pada tabel 4.1 sebagai berikut :

Tabel 4.1 Rata-rata Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap Tebal Endometrium, Miometrium dan Perimetrium Uterus *Mus musculus*

PERLAKUAN	Rata-rata Tebal $\pm$ SD (μ m)		
	Endometrium	Miometrium	Perimetrium
K (Aquadres)	187,63 $\pm$ 17,85	77,07 $\pm$ 14,29	88,31 $\pm$ 10,73
P1 (Klomifen Sitrat)	231,15 $\pm$ 25,75	69,96 $\pm$ 12,18	90,53 $\pm$ 10,03
P2 (Nanopartikel Dosis 25 mg / Kg BB)	248,32 $\pm$ 16,33	79,71 $\pm$ 5,65	101,85 $\pm$ 14,59
P3 (Nanopartikel Dosis 50 mg/Kg BB)	226,19 $\pm$ 25,18	74,11 $\pm$ 4,15	92,91 $\pm$ 9,09
P4 (Jamu Subur Kandungan Dosis 75 mg/Kg BB)	209,93 $\pm$ 34,64	68,75 $\pm$ 14,51	95,17 $\pm$ 5,76

Berdasarkan hasil pengamatan pada preparat histologi uterus yang dilakukan dengan perbesaran 40x dibawah mikroskop yang disajikan pada gambar 4.1 dapat diketahui bahwa struktur lapisan organ uterus terdiri atas 3 lapisan yaitu endometrium, miometrium dan perimetrium serta pada bagian tengah terdapat rongga yang disebut dengan lumen uterus. Lapisan endometrium tersusun atas jaringan epitel yang membentuk lipatan mukosa longitudinal yang pada lapisan ini berfungsi dalam perlekatan embrio dan perkembangan embrio (Morel dan Mina, 2008). Pada lapisan endometrium memiliki lapisan fungsionalis yaitu terdapat kelenjar tubular simpleks pada lamina propria yang berjumlah banyak. Kelenjar ini disebut dengan kelenjar uterin yang dapat memproduksi serum protein dan sejumlah kecil protein spesifik uterus (Hafez, 2000). Aktivitas dari kelenjar ini

sangat dipengaruhi oleh hormon estrogen dan progesterone dalam siklus estrus (Pineda & Dooley, 2003).

Lapisan miometrium adalah lapisan yang terdapat pada bagian tengah penyusun organ uterus penyusun lapisan ini adalah jaringan otot polos tebal yang pada sisi luar tertutup oleh lapisan otot polos tipis dan pada sisi dalamnya berhubungan dengan lapisan otot sirkular. Diantara kedua lapisan otot tersebut terdapat pembuluh darah yang disebut stratum vascular yang berfungsi untuk menyuplai aliran darah ke endometrium. Lapisan perimetrium adalah lapisan paling luar dari organ uterus yang tersusun dari jaringan ikat jenis epitel squamous yang tersusun memanjang atau longitudinal. Pada lapisan perimetrium ini terdapat pembuluh darah kecil, pembuluh limfa dan serabut syaraf (Samuelson, 2007).

Pengamatan pada tabel 4.1 diperoleh rata-rata hasil bahwa pada lapisan endometrium memiliki nilai rata-rata dari tinggi ke rendah adalah perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg/Kg BB) yaitu sebesar $248,32 \pm 16,33$, kemudian perlakuan P1 (klomifen sitrat) dengan nilai rata-rata $231,15 \pm 25,75$, kemudian perlakuan P3 (nanopartikel dosis 50 mg/Kg BB) dengan nilai rata-rata $226,19 \pm 25,18$ dan selanjutnya pada perlakuan P4 (jamu subur kandungan dosis 75 mg/Kg BB) menunjukkan nilai rata-rata $209,93 \pm 34,64$ dimana hasil nilai rata-rata pada perlakuan tersebut mengalami peningkatan ketebalan jika dibandingkan dengan perlakuan K (kontrol) yang memiliki nilai rata-rata sebesar $187,63 \pm 17,85$.

Pada rata-rata tebal miometrium menunjukkan bahwa nilai rata-rata paling tinggi adalah pada perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg/Kg BB) yaitu $79,71 \pm 5,65$, kemudian secara berurutan dari nilai tinggi ke rendah adalah perlakuan K (aquades) yaitu $77,07 \pm 14,29$, kemudian perlakuan P3 (nanopartikel dosis 50

mg/Kg BB) dengan nilai $74,11 \pm 4,15$, selanjutnya perlakuan P1 (Klomifen sitrat) $69,96 \pm 12,18$ dan perlakuan P4 (jamu subur kandungan dosis 75 mg/Kg BB) yaitu $68,75 \pm 14,51$.

Selanjutnya nilai rata-rata ketebalan pada lapisan perimetrium menunjukkan bahwa nilai rata-rata ketebalan paling tinggi adalah pada perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg/Kg BB) yaitu sebesar $101,85 \pm 14,59$, kemudian secara berurutan dari nilai tinggi ke rendah adalah P4 (jamu subur kandungan dosis 75 mg/Kg BB) yaitu sebesar $95,17 \pm 5,76$, kemudian perlakuan P3 (nanopartikel dosis 50 mg/Kg BB) yaitu sebesar $92,91 \pm 9,09$, kemudian perlakuan P1 (klomifen sitrat) yaitu $90,53 \pm 10,03$ dan perlakuan K (Kontrol) yaitu $88,31 \pm 10,73$

Berdasarkan hasil pengukuran ketebalan yang dilakukan pada masing-masing lapisan organ uterus, selanjutnya data hasil pengukuran tersebut dianalisis menggunakan *SPSS 20 for Windows*. Analisis data yang dilakukan adalah dengan menguji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Pada uji normalitas *Kolmogorov-smirnov* diketahui bahwa pada tebal endometrium diperoleh nilai sigifikansi 0,961 ($p > 0,05$), kemudian pada tebal miometrium diperoleh nilai signifikansi 0,711 ($p > 0,05$) dan pada perimetrium diperoleh nilai signifikansi 0,947 ($p > 0,05$) yang dalam data ini menunjukan keseluruhan nilai tebal endometrium, miometrium dan perimetrium berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene Test* yang diperoleh hasil bahwa pada tebal endometrium mempunyai nilai signifikansi 0,619 ($p > 0,05$) kemudian pada tebal miometrium diperoleh nilai signifikansi 0,215 ($p > 0,05$) dan pada tebal perimetrium diperoleh nilai signifikansi 0,207 ($p > 0,05$),

yang dalam hal ini nilai signifikansi pada ketiga tebal lapisan menunjukkan bahwa data sudah homogen.

Setelah data berdistribusi normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* dengan taraf $\alpha = 5\%$. Hasil yang diperoleh pada uji ini diketahui pada tebal endometrium nilai signifikansinya adalah 0,012 ($p < 0,05$), kemudian pada miometrium diperoleh nilai signifikansi 0,495 ($p > 0,05$) dan pada perimetrium diperoleh nilai signifikansi 0,325 ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pada data tebal endometrium nilai signifikansi yang diperoleh lebih kecil dari 0,05 sehingga hipotesis penelitian diterima yaitu H_0 ditolak dan H_1 diterima. Sedangkan pada tebal miometrium dan perimetrium nilai signifikansinya lebih tinggi dari 0,05 sehingga diartikan bahwa pemberian perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak *Alium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* hanya berpengaruh pada lapisan endometrium.

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA* diketahui bahwa hanya pada tebal endometrium uterus yang memiliki pengaruh signifikan terhadap pemberian perlakuan pada *Mus musculus*. Hal ini dapat terjadi karena kandungan senyawa fitoestrogen yang diberikan pada berbagai dosis perlakuan hanya cukup untuk mempengaruhi aktivitas estrogenik dari lapisan endometrium mencit. Menurut Dellman dan Brown, 1992 dalam Sitasiwi (2008) lapisan endometrium merupakan lapisan yang sangat sensitif dan responsif terhadap aktivitas perubahan hormon reproduksi dalam tubuh. Variasi perubahan yang terjadi pada lapisan ini seiring dengan siklus estrus yang berlangsung, sehingga dapat dijadikan indikator fluktuasi kadar hormonal dalam sistem reproduksi suatu hewan.

Aktivitas yang terjadi pada lapisan endometrium setelah pemberian perlakuan nanopartikel ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* pada ketebalan uterus mencit disebabkan karena adanya senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam kombinasi tiga tumbuhan tersebut yaitu flavonoid, alkaloid dan triterpenoid (Muchtaromah, 2017). Menurut Zhang *et al*, (2007) senyawa-senyawa yang terkandung pada tiga tumbuhan tersebut adalah senyawa turunan isoflavon yang dapat berperan sebagai fitoestrogen yang berpengaruh dalam sekresi hormon estrogen pada sistem reproduksi betina. Aktivitas senyawa fitoestrogen pada kombinasi 3 tumbuhan tersebut akan melakukan ikatan kompleks pada sitosol dan menempati reseptor hormon estrogen sehingga akan menyebabkan terjadinya mekanisme transkripsi dan translasi mRNA dalam menghasilkan protein sel target sehingga dapat mempengaruhi jumlah sel pada lapisan endometrium (Cooke, 1998).

Tidak adanya pengaruh yang nyata terhadap ketebalan lapisan miometrium dan perimetrium dapat terjadi karena kadar senyawa fitoestrogen yang diberikan pada mencit sehat dengan berbagai dosis perlakuan belum mampu mempengaruhi jaringan tersebut. Kemudian jumlah reseptor estrogen endogen juga mempengaruhi responsivitas sel atau jaringan terhadap senyawa fitoestrogen yang diberikan, karena mekanisme dari fitoestrogen adalah akan menempati atau menduduki reseptor estrogen endogen untuk memicu ataupun menghambat aktifitas hormonal dalam sistem reproduksi. Menurut Lailiyah (2018) dalam penelitian sebelumnya menyatakan bahwa reseptor estrogen pada miometrium memiliki konsentrasi jumlah yang sedikit jika dibandingkan dengan lapisan endometrium, bahkan pada

lapisan perimetrium berdasarkan literatur tidak disebutkan adanya reseptor estrogen pada lapisan tersebut.

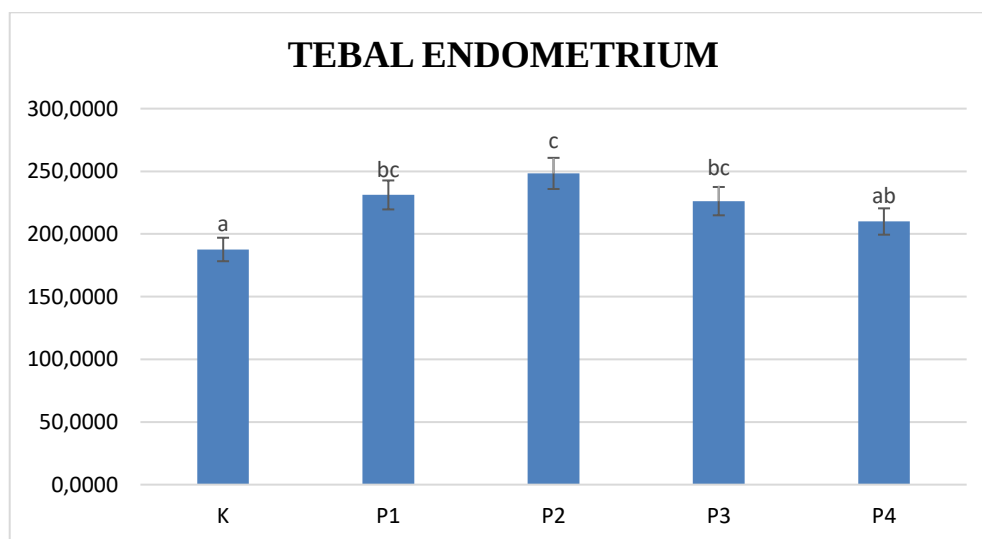
Dalam penelitian Hiroi (1999) menjelaskan bahwa lokasi terdapatnya reseptor hormon estrogen adalah pada sel epitel yang terletak berbatasan dengan lumen uterus, sel stroma dan pada lapisan otot miometrium. Aktivitas yang terjadi pada senyawa fitoestrogen adalah dengan melakukan implikasi dari senyawa fitoestrogen yang bergantung pada jumlah reseptor estrogen, lokasi reseptor estrogen dan konsentrasi estrogen endogen. Hal ini didukung juga dengan lain yaitu menurut Farooq (2015) dalam Muchtaromah (2018) yang menyatakan bahwa konsentrasi jumlah dan lokasi reseptor estrogen endogen akan mempengaruhi senyawa fitoestrogen dalam melakukan aktivitas dan implikasi secara klinis pada organ reproduksi betina. Keberadaan reseptor estrogen ini sangat penting dalam mengikat senyawa fitoestrogen agar memunculkan aktivitas estrogenik sehingga dapat mempengaruhi tebal lapisan uterus. Sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian dosis nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* kurang tinggi untuk mempengaruhi tebal lapisan miometrium. Sedangkan pada lapisan perimetrium memang tidak menunjukkan adanya aktivitas estrogenik karena tidak adanya reseptor estrogen (Lailiyah, 2018).

Selanjutnya pada tebal endometrium dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf $\alpha = 5\%$ untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing perlakuan. Uji lanjut ini hanya dilakukan pada data ketebalan endometrium karena dalam uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai uji yang signifikan dan bisa dilakukan uji lanjut. Berdasarkan hasil uji DMRT

diketahui bahwa nilai notasi dan diagram rata-rata ketebalan endometrium disajikan pada tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.2 Ringkasan DMRT 5% dari Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap tebal lapisan endometrium *Mus musculus*

Perlakuan	Rata-rata Tebal Endometrium ± SD (µm)	Notasi
K (Aquadres)	187,63 ± 17,85	a
P4 (Jamu Subur Kandungan Dosis 75 mg/Kg BB)	209,93 ± 34,64	ab
P3 (Nanopartikel Dosis 50 mg/Kg BB)	226,19 ± 25,18	bc
P1 (Klomifen Sitrat)	231,15 ± 25,75	bc
P2 (Nanopartikel Dosis 25 mg / Kg BB)	248,32 ± 16,33	c



Gambar 4.2 Diagram Rata-rata Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap tebal lapisan endometrium *Mus musculus*

Hasil analisis dari Uji DMRT (Tabel 4.2) diketahui bahwa kelompok perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg / Kg BB) memiliki nilai rata-rata paling tebal yaitu sebesar $248,32 \pm 16,33$ yang berbeda nyata dengan perlakuan K- (kontrol) dan perlakuan P4 (jamu subur kandungan) yang ditunjukkan dengan tidak adanya notasi huruf yang sama. Namun perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan P1 (klomifen sitrat) dan P3 (nanopartikel dosis 50 mg/Kg BB) karena mempunyai notasi dengan huruf yang sama. Perlakuan K (kontrol) memiliki nilai rata-rata paling rendah yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan P4 (jamu subur kandungan).

Berdasarkan dari analisis tabel 4.2 adanya perbedaan yang signifikan dari perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg / Kg BB) dengan perlakuan K (kontrol) dan P4 (jamu subur kandungan) menunjukkan bahwa induksi nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* pada mencit betina normal selama 15 hari mampu meningkatkan ketebalan endometrium uterus. Peningkatan ketebalan endometrium ini dipengaruhi oleh senyawa fitoestrogen yang terkandung dalam kombinasi 3 tumbuhan tersebut. Menurut Muchtaromah (2020), ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* mengandung senyawa fitokimia yaitu flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Hal ini juga didukung oleh Krizova *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa senyawa fitoestrogen dapat diperoleh dari tumbuhan yang mengandung senyawa isoflavon, ligan, coumestans, triterpenic glikosida dan senyawa lain seperti alkaloid, teriterpenoid dan chalcone.

Isoflavon merupakan senyawa utama yang mempunyai aktifitas sebagai fitoestrogen dalam tubuh dan merupakan kelompok terbesar dalam kelompok

flavonoid yang dapat ditemukan pada tumbuhan. Kandungan senyawa dalam kombinasi tiga tumbuhan tersebut diketahui adalah golongan flavonoid, alkaloid dan triterpenoid dimana kombinasi tiga tanaman tersebut dapat berperan sebagai antioksidan, antimikroba dan immunomodulator (Muchtaromah., 2020). Menurut Burton & Wells (2002) senyawa fitoestrogen merupakan senyawa alami yang ditemukan pada berbagai tumbuhan yang memiliki struktur fungsional mirip dengan 17β – estradiol (isoflavon) dan estrogen sintetis diethylstilboestrol (lignin). Senyawa Genestein merupakan senyawa golongan isoflavon yang dapat ditemukan pada *Allium sativum* memiliki kemiripan struktur kimia dengan estrogen endogen sehingga dapat menimbulkan aktivitas estrogenik dalam tubuh.

Aktivitas estrogenik yang menyebabkan peningkatan ketebalan pada endometrium *Mus musculus* adalah karena pemberian perlakuan kombinasi tiga tumbuhan tersebut mengandung senyawa fitoestrogen. Senyawa fitoestrogen tersebut akan berikatan dengan reseptor estrogen endogen sehingga menyebabkan terjadinya aktivitas estrogenik pada organ reproduksi. Menurut Grubber *et al.*, (2002) efek estrogenik yang terjadi pada uterus terjadi karena adanya ikatan antara senyawa fitoestrogen dengan reseptor estrogen endogen yang menyebabkan terjadinya pengaktifan reseptor estrogen untuk menstimulasi sekresi hormon estrogen.

Aktivitas antioksidan senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan tersebut meliputi senyawa *allicin* dari bawang putih, kemudian senyawa fenolik kurkumin, kalkon, flavanon, flavonoid pada temu mangga (Muchtaromah, 2017) dan terdapat senyawa steroid, fenol dan tannin dari jeringau (Barua, 2014). Senyawa-senyawa ini akan mengubah radikal bebas yang masuk dalam tubuh

dengan melakukan pemotongan struktur radikal lipida bebas menjadi bentuk yang stabil melalui mekanisme reaksi oksidasi berantai. Fungsi dari mekanisme ini adalah untuk mengurangi kerusakan sel tubuh karena radikal bebas tidak dapat berikatan dan bereaksi dengan sel tubuh sehingga akan memicu aktivitas proliferasi sel dan regenerasi sel pada sel penyusun organ uterus yang dapat menyebabkan peningkatan ketebalan lapisan organ uterus (Burton & Wells, 2012).

Mekanisme terjadinya peningkatan ketebalan pada endometrium disebabkan oleh aksi senyawa fitoestrogen yang mirip dengan aktivitas estrogen endogen dalam tubuh. Senyawa fitoestrogen akan melakukan ikatan langsung maupun tidak langsung dengan reseptor $ER\alpha$ dan $ER\beta$ (Zhao dan Mu, 2011). Menurut Lacomte *et al.*, (2017) menjelaskan bahwa senyawa fitoestrogen yang masuk dalam tubuh akan berikatan dengan $ER\alpha$ yang sebagian besar diekspresikan dalam jaringan seperti rahim, kelenjar susu dan hati atau $ER\beta$ yang diekspresikan oleh otak. Reseptor ER tersebut memiliki kemampuan untuk menjadi kofaktor, merangsang ekspresi gen dan merangsang atau menghambat pertumbuhan sel. Fuentes dan Siveyra (2019) melaporkan bahwa mekanisme kerja dari fitoestrogen dalam tubuh adalah melalui ekspresi genomik, yaitu adanya ikatan fitoestrogen dengan reseptor estrogen (ER) sehingga menyebabkan terjadinya transkripsi gen seperti efek estrogen endogen. Ikatan kompleks tersebut akan menyebabkan terjadinya transkripsi dan translasi sehingga dapat memicu maturasi sel pada proses folikulogenesis, memicu ovulasi serta memicu korpus luteum untuk memproduksi hormon estrogen dan progesterone.

Ekspresi hormon estrogen pada tebal endometrium ini terjadi pada sitosol dengan melakukan ikatan site banding *EREs* (*Estrogen Response Element*) pada

rantai DNA di nukelus. Ikatan yang terjadi antara hormon estrogen dengan *ER* akan memicu terjadinya ekspresi gen (ekspresi estrogen response gen) untuk menghasilkan suatu jenis protein c-Myc yang berfungsi dalam peningkatan siklus sel dan proliferasi sel-sel penyusun organ uterus (Kostelac *et al.*, 2003). Menurut Safitri, dkk (2005) juga menjelaskan bahwa efek estrogenic isoflavon dapat menyebabkan peningkatan kadar estrogen dalam darah dengan cara meningkatkan produksi *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH) sehingga akan memicu peningkatan sekresi *Folicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH) yang selanjutnya akan diikuti dengan terjadinya steroidogenesis dan folikulogenesis dan memicu pertumbuhan folikel serta peningkatan kadar estrogen dalam darah.

Adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan P2 (nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dosis 25 mg/Kg BB) dengan perlakuan P4 (jamu subur kadungan dosis 75 mg/kg BB) dapat disebabkan oleh faktor teknologi nanopartikel memiliki tingkat kelarutan dan penyerapan dalam tubuh yang lebih baik dari pada jamu. Menurut Xue *et al.*, (2012) tingkat kelarutan dari suatu ekstrak tumbuhan dalam air hanya sekitar 40%. Efek dari tingkat kelarutan yang rendah tersebut dapat mengakibatkan adanya efek lain dalam tubuh yaitu resiko tingkat toksisitas yang tinggi (Kritika *et al.*, 2013). Kemudian sifat dari fitoestrogen adalah mudah terdegradasi oleh endopeptida dan eksopeptida yang berada pada hipofisis, hati dan ginjal (Zohar & Mylonas, 2001). Perlindungan senyawa fitoestrogen yang diterapkan dalam tubuh perlu dilindungi dengan suatu teknologi farmasi yaitu penyalutan senyawa kimia dengan teknologi nanopartikel. Menurut Rather *et al.*, (2013) partikel nano dapat digunakan untuk

perlindungan hormon dari degradasi yang cepat selama proses transportasi sebelum mencapai organ target dan juga dapat mengendalikan proses pelepasan agen senyawa bioaktif yang berkelanjutan.

Nanopartikel kitosan merupakan suatu teknologi nanocarier yang memiliki kisaran ukuran 10-10.000 nm yang memanfaatkan kitosan sebagai polimer carier (Zhang *et al.*, 2011). Menurut Naseri *et al.*, (2018) kitosan merupakan biopolimer alami yang berasal dari kitin eksoskeleton kepiting, udang dan lobster yang terdiri dari gugus β -(1,4)-2-acetamido-D-glukosa dan β -(1,4)-2-amino-D-glukosa, yang memiliki karakter polikationik, biokompatibilitas, biodegradabilitas, non-toksisitas, dan bioavailabilitas. Penggunaan nanopartikel kitosan ini banyak digunakan pada teraupetik obat yang dilakukan melalui oral. Pemberian obat atau terapi menggunakan nanopartikel kitosan dapat melindungi dan mengontrol pelepasan senyawa yang masuk dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan Jhaveri *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa adanya ikatan antara gugus kation kitosan dan gugus asam anion mukosa menghasilkan sifat mukoadhesif pada kitosan sehingga dapat melindungi senyawa dalam jangka waktu yang lama dan mengontrol pelepasan senyawa tersebut.

Penyalutan senyawa fitoestrogen dari kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Allium sativum* menggunakan teknologi nanopartikel kitosan dosis 25 mg/kg BB dapat meningkatkan bioavailabilitas dari senyawa tersebut dalam tubuh yang diberikan secara oral. Peningkatan bioavailabilitas tersebut terjadi karena suatu senyawa obat yang disalut dengan nanopartikel kitosan dapat memperkecil ukuran partikel dan memperluas bidang permukaan dari senyawa tersebut. Menurut Kulkarni dan Feng (2013) melaporkan bahwa ukuran partikel,

luas bidang permukaan, berat molekul dan komposisi kimia merupakan faktor yang mempengaruhi adhesi partikel, interaksi dengan membran mukosa dan pelepasan obat kinetika. Hal ini didukung oleh penelitian Alqahtani *et al.*, (2021) yang menjelaskan bahwa partikel yang mempunyai ukuran dibawah 50, 100-500 nm akan lebih mudah melewati dinding gastrointestinal melalui saluran paraseluler, endositosis oleh enterosit, dan serapan seluler oleh sel M dari *patch peyer*.

Selanjutnya pada perlakuan P1 (klomifen sitrat), P2 (nanopartikel kombinasi dosis 25 mg/kg BB) dan P3 (nanopartikel kombinasi dosis 50 mg/kg BB) berdasarkan hasil uji lanjut *DMRT* diketahui tiga perlakuan tersebut tidak mempunyai pengaruh perbedaan yang signifikan yang ditunjukkan dengan adanya notasi huruf yang sama namun berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (K-). Namun dalam nilai rata-ratanya diketahui bahwa secara berurutan nilai rata-rata ketebalan endometrium dari tinggi ke rendah adalah P2, P1 dan P3.

Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa perlakuan pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB memiliki beberapa senyawa alami bioaktif dengan fungsi yang hampir sama dengan klomifen sitrat (P1). Klomifen sitrat merupakan sebuah obat yang terstandarisasi yang memiliki fungsi untuk meningkatkan ovulasi. Menurut Gupta & Khana (2018) menjelaskan bahwa klomifen sitrat merupakan obat turunan *trifenil etilen* yang merupakan obat non steroid yang sering digunakan dalam usaha program kehamilan dengan meningkatkan ovulasi. Obat ini merupakan golongan *selective estrogen reseptor modulator* (SERM) yang sering digunakan dalam mengatasi infertilitas dengan

menginduksi ovulasi dan biasanya dipakai dalam *invitro fertilization* dan inseminasi buatan (Yilmaz *et al.*, 2018).

Klomifen sitrat atau 2-[*p*-(2-chloro-1,2-diphenylvinyl) phenoxy] triethylamine citrate adalah agen oral yang digunakan untuk mengobati infertilitas pada wanita. Klomifen sitrat bekerja dengan mekanisme antiestrogenik pada reseptor estrogen. Menurut Cunha & Ana (2021) klomifen sitrat bertindak sebagai antiestrogen dengan menghalangi reseptor estrogen pada hipotalamus yang menimbulkan aktivitas pengiriman sinyal kurangnya estrogen dalam tubuh. Aktivitas tersebut menimbulkan kesalahan interpretasi kadar estrogen sehingga akan meningkatkan sekresi gonadotrophin releasing hormone (GnRH). Selanjutnya hal tersebut akan meningkatkan produksi *follicle stimulating hormon* (FSH) dan *luteinizing hormon* (LH) oleh hipofisis anterior yang akan merangsang pematangan akhir dari follikel. Berdasarkan ASRM (2015) menjelaskan bahwa folikel yang telah mature dapat meningkatkan kadar estrogen yang dapat menimbulkan peningkatan tebal endometrium dan lonjakan LH yang menyebabkan terjadinya ovulasi.

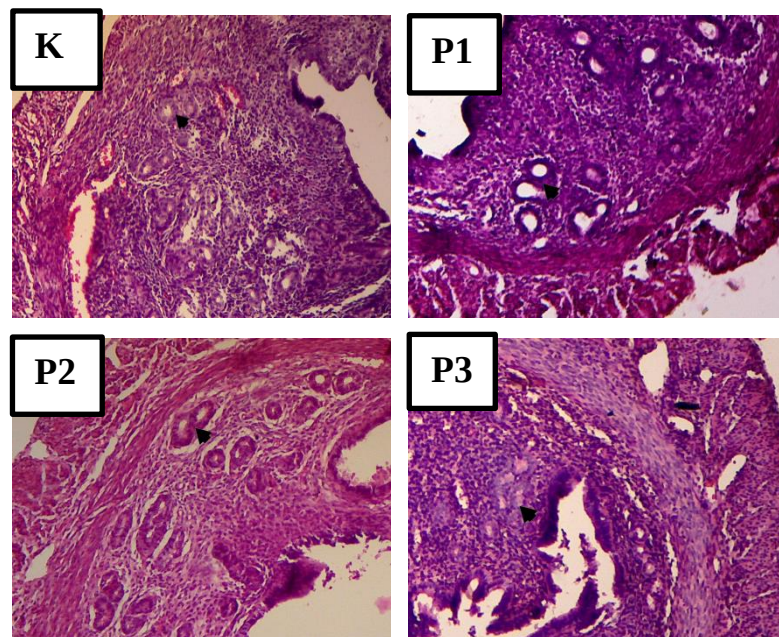
Hasil rata-rata data menunjukkan bahwa perlakuan P2 memiliki nilai rata-rata ketebalan yang lebih tinggi yaitu senilai $248,32 \pm 16,33 \mu\text{m}$ dibandingkan dengan perlakuan P1 dengan nilai rata-rata $231,15 \pm 25,75 \mu\text{m}$ dan P3 dengan nilai rata-rata $226,19 \pm 25,18$ yang secara berurutan dari nilai rata-rata dari tinggi ke rendah. Perbedaan nilai rata-rata tersebut dapat disebabkan karena terapi pemberian obat secara oral menggunakan teknologi nanopartikel kitosan dapat meningkatkan penyerapan senyawa aktif fitoestrogen yang masuk dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan Singh *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa teknologi penyalutan senyawa

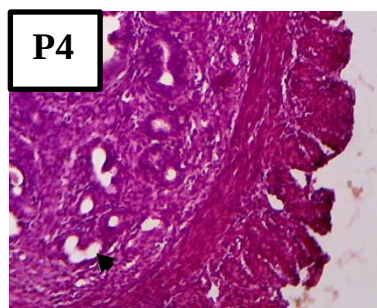
aktif dengan nanopartikel kitosan yang digunakan dalam terapi obat secara oral dapat meningkatkan stabilitas suatu senyawa tersebut, melindungi senyawa dari penyerapan yang cepat sehingga senyawa aktif tersebut dapat diserap oleh tubuh secara lambat atau berangsur-angsur serta meningkatkan aktivitas antioksidan dan antimikroba senyawa aktif dari bentuk bebasnya.

Klomifen sitrat adalah obat yang terstandarisasi dalam farmasi untuk terapi ovulasi dan peningkatan kadar estrogen tubuh. Terapi hormon estrogen dapat dilakukan dengan menginduksi obat estrogen sintetik maupun dengan senyawa alami yaitu fitoestrogen yang didapat dari tumbuhan. Namun dalam hal ini jika dalam penggunaannya berlebih atau kurang tepat, dapat menimbulkan penurunan aktivitas dari fungsi obat itu sendiri terhadap organ target yaitu hipotalamus. Seperti halnya pada pemberian dosis P3 (nanopartikel dosis 50 mg/kg BB) yang menunjukkan penurunan aktivitas penebalan endometrium uterus dibandingkan dengan perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg/kg BB). Hal ini dapat terjadi karena pemberian komposisi dosis yang tepat dapat meningkatkan laju metabolisme secara maksimal sedangkan jika dosis berlebih akan menimbulkan efek yang kurang maksimal atau bahkan penurunan. Hal ini sesuai dengan Fait (2019) yang menyatakan bahwa pemberian terapi hormon estrogen dalam dosis rendah dapat meningkatkan kadar estrogen dalam organ reproduksi sehingga dapat merawat dan mencegah infertilitas dan menopause dini. Kemudian pemberian perlakuan secara oral dalam dosis tinggi memberikan resiko yang dapat mempengaruhi kerusakan organ dalam jalur lintas pertama yang dilewati senyawa ataupun obat tersebut seperti resiko tromboemboli vena, endometosis atau kanker rahim.

4.2 Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus

Pengambilan data dalam penelitian “Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap jumlah Kelenjar Endometrium Uterus” dilakukan dengan menghitung jumlah kelenjar per satuan lapang pandang pada penampang melintang organ uterus dengan perbesaran lensa objektif 100 x yang diamati pada layar monitor mikroskop komputer menggunakan *Counter* pada *software Image Raster* sebagai alat bantu hitung. Hasil perhitungan jumlah kelenjar endometrium secara visualisasi pada berbagai jenis perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.2 sebagai berikut :





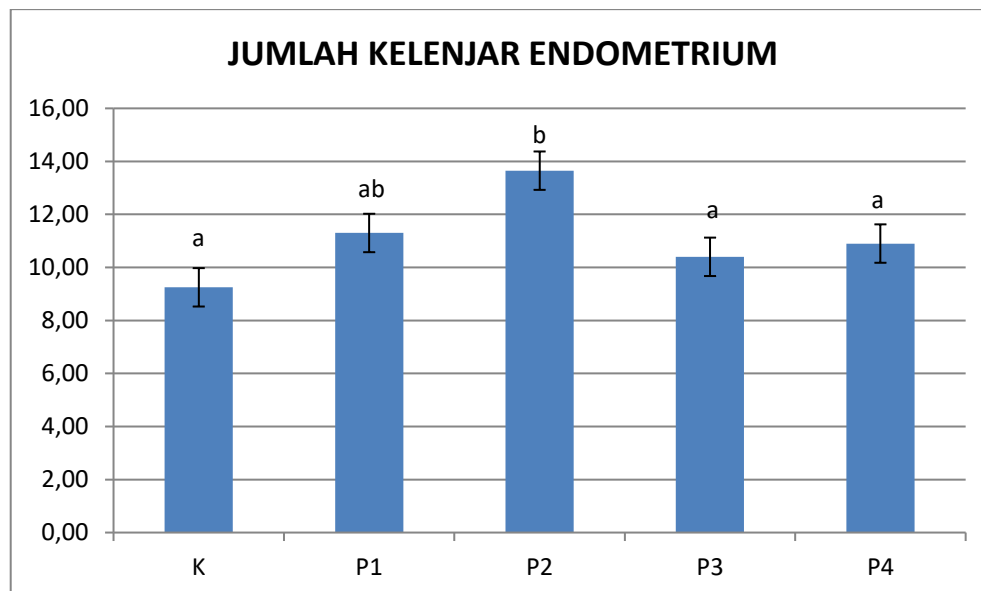
Gambar 4.3 Histologi Uterus Mencit (*Mus musculus*) dengan Pewarnaan Hematoxilin-Eosin Perbesaran 100 x. Tanda Panah (➡) Menunjukkan Kelenjar Endometrium.

Pengamatan yang dilakukan pada gambar 4.2 selanjutnya dikonfirmasi jumlah kelenjar endometrium uterus menggunakan *Counter* pada *Software Image Raster*. Kemudian rata-rata jumlah kelenjar endometrium tersebut dilakukan analisis statistik menggunakan *Software SPSS 20 for Windows* yang disajikan pada tabel 4.3 sebagai berikut :

Tabel 4.3 Ringkasan Penghitungan Rata-rata dan Hasil Uji DMRT Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus *Mus musculus*

Perlakuan	Ulangan	Rata-Rata Jumlah Kelenjar Endometrium $\pm$ SD	Notasi
K (Kontrol)	5	9,25 $\pm$ 1,31	a
P3 (Nanopartikel Dosis 25 mg / kg BB)	5	10,40 $\pm$ 1,94	a
P4 (Jamu Subur Kandungan)	5	10.90 $\pm$ 1,95	a
P1 (Klomifen Sitrat)	5	11,30 $\pm$ 2,08	ab

P2 (Nanopartikel Dosis 25 mg / kg BB	5	13,65 ± 2,29	b
---	---	--------------	---



Gambar 4.4 Diagram Penghitungan Rata-rata dan Hasil Uji DMRT Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus *Mus musculus*

Berdasarkan gambar 4.2 diketahui bahwa pada lapisan endometrium mencit (*Mus musculus*) terdapat kelenjar endometrium (*uterine gland*) yang terlihat berbentuk bulat, tubular sampai berkelok-kelok. Kelenjar endometrium ini tersusun atas jaringan epitel silindris dan terdapat lumen. Hal ini sesuai dengan Kelleher *et al.* (2019), bahwa kelenjar endometrium adalah kelenjar yang terbentuk dari invaginasi endometrium uterus. Kelenjar endometrium tersusun atas jaringan epitel silindris selapis yang memiliki 2 jenis sel yaitu sel cilia dan sel sekretori. Kelenjar endometrium akan mengalami perubahan bentuk sesuai dengan siklus menstruasi yaitu pada fase proliferasi kelenjar endometrium akan tampak melingkar dengan lumen yang lebar dan menghasilkan sekresi yang kaya glikogen. Sedangkan pada

fase sekretori, kelenjar uterus memiliki struktur panjang dan berkelok-kelok yang disebabkan karena sekresi estrogen oleh ovarium (Agustini, 2007).

Selanjutnya dilakukan uji analisis data dengan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Hasil uji normalitas data *Kolmogorov-smirnov* diketahui bahwa pada data jumlah kelenjar endometrium diperoleh nilai signifikansi 0,970 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa nilai dalam data tersebut berdistribusi normal. Setelah data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji *Levene test*, yang diketahui pada data jumlah kelenjar endometrium tersebut memiliki nilai signifikansi 0,35 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa populasi data tersebut bersifat homogen.

Setelah uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi $p > 0,05$, selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* dengan taraf $\alpha = 5\%$. Hasil uji tersebut diketahui bahwa nilai signifikansi data kelenjar endometrium adalah 0,027 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa pada data jumlah kelenjar endometrium tersebut memiliki nilai signifikansi yang lebih kecil dari 0,05 sehingga hipotesis penelitian diterima yaitu H_0 ditolak dan H_1 diterima. Uji *One Way ANOVA* menunjukkan hasil bahwa nilai signifikansi jumlah kelenjar endometrium $p < 0,05$ sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut DMRT yang digunakan sebagai penentu adanya perbedaan pengaruh pada setiap perlakuan.

Berdasarkan hasil uji lanjut dengan menggunakan uji DMRT diketahui bahwa pada perlakuan P2 (nanopartikel 25 mg/kg BB) memiliki peningkatan jumlah kelenjar endometrium dengan nilai (13,65 – 2,29) dibandingkan dengan perlakuan

K (kontrol), P3 (nanopartikel 50 mg/kg BB) P4 (jamu subur kandungan) yang secara berturut-turut dari hasil nilai rata-rata rendah ke tinggi. Peningkatan jumlah kelenjar tersebut pada uji analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan P2 memiliki nilai signifikansi yang berbeda nyata dengan perlakuan K, P3, dan P4 yang dibuktikan dengan adanya nilai notasi yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dosis 25 mg/kg BB mampu meningkatkan jumlah kelenjar endometrium uterus. Peningkatan jumlah kelenjar endometrium dapat terjadi karena kandungan senyawa aktif yang terdapat pada kombinasi tiga tumbuhan tersebut mengandung senyawa fitoestrogen dan senyawa antioksidan yang dapat mimicu aktifitas estrogenik dan melindungi dari paparan radikal bebas pada sistem reproduksi betina. Hal tersebut sesuai dengan Muchtaromah (2020) yang menyatakan bahwa pada ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* mengandung beberapa senyawa aktif yaitu flavonoid, alkaloid dan triterpenoid dimana senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antimikroba dan immunomodulator.

Perbedaan nilai signifinkansi dari pemberian perlakuan P2 (nanopartikel dosis 25 mg/kg BB) dibandingkan dengan perlakuan K (kontrol) adalah karena adanya pengaruh perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* yang mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid dan triterpenoid yang dapat berberan sebagai fitoestrogen dalam tubuh. Menurut Sitasiwi (2013) Senyawa fitoestrogen merupakan senyawa aktif bersifat estrogenik yang berasal dari tumbuhan yang digolongkan menjadi isoflavonoid dan lignan. Senyawa fitestrogen memiliki struktur gugus hidroksil (OH) yang memiliki

kemiripan dengan estrogen endogen sehingga memiliki peranan penting dalam pengikatan dengan reseptor estrogen (ER) (Toren & Pilar, 2020). Dalam penelitian Haibin *et al.*, (2005) melaporkan bahwa penggunaan mencit yang diberi perlakuan senyawa fitoestrogen menunjukkan adanya aktivitas proliferasi sel sel endometrium.

Metode perlakuan pemberian senyawa aktif dari kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dilakukan melalui oral dengan menyulut ekstrak kombinasi 3 tanaman tersebut dengan teknologi nanopartikel kitosan. Penyalutan ekstrak 3 tumbuhan tersebut dengan teknologi nanopartikel kitosan bertujuan untuk meminimalisir dosis, melindungi senyawa aktif yang terkandung didalamnya dan meningkatkan bioavailabilitas dari senyawa aktif dari kombinasi tiga tumbuhan tersebut dalam tubuh. Menurut Garg *et al.* (2019) menjelaskan bahwa penggunaan teknologi nanopartikel dapat membantu meningkatkan ketahanan senyawa obat, mengontrol pelepasan atau penyerapan senyawa obat, penargetan yang spesifik dan meningkatkan luas permukaan sehingga hal ini dapat membantu dalam pengurangan dosis yang diberikan maupun frekuensi pemberian obat terhadap pasien.

Peningkatan jumlah kelenjar endometrium pada perlakuan P2 terjadi karena adanya proliferasi dari sel-sel uterus. Proliferasi sel uterus dapat terjadi pada masa siklus proestrus sampai fase estrus. Pada fase ini hormon estrogen memiliki peranan penting dalam peningkatan mitosis dan proliferasi sel-sel endometrium. Hal ini sesuai dengan penelitian ini yang dilakukan dengan melakukan pembedahan organ uterus pada hari ke 15 yang bertujuan mencit berada pada fase estrus sebanyak 3 kali masa estrus sehingga pada fase ini akan diketahui perkembangan organ uterus

yang terjadi. Menurut Haryanto dkk., (2021) rata-rata panjang masa satu siklus estrus pada mencit terjadi selama 4-5 hari. Menurut Busman (2013) menjelaskan bahwa terjadinya peningkatan kadar hormon estrogen pada sistem reproduksi terjadi pada masa antara fase proestrus sampai estrus yang pada fase ini hormon estrogen akan memicu terjadinya proliferasi sel-sel pada uterus dan vagina.

Hasil analisis data diketahui bahwa pada perlakuan P1 (klomifen sitrat), P3 (nanopartikel 50 mg/kg BB) dan P4 (jamu subur kandungan) memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan control (K) yang ditunjukkan dengan adanya nilai notasi yang sama. Walaupun pada nilai rata-rata menunjukkan adanya peningkatan jumlah nilai dari tinggi kerendah adalah P1 (11,30 - 2,08), P4 (10,90 - 1,95), P3 (10,40 - 1,94) dan K (9,25 - 1,31). Hal ini dapat disebabkan karena jumlah pemberian dosis akan mempengaruhi kadar estrogen tubuh yang dapat bersifat agonis dan antagonis. Menurut Assaidah (2018) peranan hormon estrogen dalam tubuh dapat bersifat agonis dan antagonis bergantung pada jumlah atau konsentrasi hormon estrogen endogen sendiri ataupun pengaruh konsentrasi dari luar (eksogen). Sehingga konsentrasi yang berlebih atau kurang tepat akan menyebabkan penghambatan jumlah hormon estrogen.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan P1 (klomifen sitrat) dengan perlakuan P2 (nanopartikel 25 mg/kg BB) dapat disebabkan karena kandungan senyawa aktif yang terdapat pada perlakuan P1 mempunyai kemiripan fungsi dengan klomifen sitrat yang merupakan obat yang terstandarisasi untuk meningkatkan ovulasi pada wanita. Menurut Gupta dan Khanna (2018) menjelaskan bahwa klomifen sitrat merupakan obat turunan *trifenil etilen* yang termasuk dalam golongan *selective estrogen reseptor modulator* (SERM) yang

digunakan dalam meningkatkan ovulasi untuk mengatasi masalah infertilitas. Kломifen sitrat akan bertindak sebagai antiestrogen dan menghalangi reseptor estrogen pada hipotalamus sehingga akan menyebabkan pengiriman sinyal kurangnya kadar estrogen dalam tubuh yang memicu *gonadotrophin releasing hormon* (GnRH) untuk meningkatkan produksi hormon *follicle stimulating hormon* (FSH) dan *luteinizing hormon* (LH) yang akan merangsang pematangan akhir dari folikel (Cunha & Ana, 2021).

Peningkatan yang terjadi pada jumlah kelenjar endometrium uterus ini memiliki peranan penting dalam meningkatkan kesuburan pada wanita. Menurut Kelleher *et al.*, (2019) kelenjar endometrium merupakan kelenjar yang berfungsi untuk mensintesis dan mensekresi berbagai zat maupun hormon kedalam sistem reproduksi yang berperan penting dalam implantasi embrio pada uterus, perkembangan placenta dan desidualisasi sel stroma. Sehingga adanya peningkatan jumlah kelenjar pada endometrium akan memberikan nutrisi yang cukup terhadap embrio yang berimplantasi pada uterus.

Menurut Busane *et al.*, (2016) menjelaskan bahwa kelenjar endometrium mensekresikan asam amino, glukosa, lipid, ion dan protein hormon yang berfungsi untuk nutrisi dari implantasi blastokista pada endometrium. Menurut Filant & Thomas (2013) melaporkan bahwa pada kelenjar endometrium ini merupakan satu-satunya sel yang mengekspresikan *leukemia inhibitory factor* (LIF) yang merupakan hasil ekspresi gen dari estrogen dari ovarium pada hari ke 3,5 pasca kawin yang sangat penting dalam proses perlekatan blastokista ke endometrium dan desidualisasi sel stroma.

Allah SWT telah menjelaskan pada umatnya bahwa pada berbagai tumbuhan mempunyai manfaat yang beragam salah satunya dapat menjadi sebuah obat maupun terapi alami yang sangat bermanfaat bagi manusia. Sebagaimana salah satu dari nama Allah yaitu *Asy-Syafii* yang berarti Maha Menyembuhkan. Oleh karena itu sebagai manusia hendaknya terlebih segai peneliti muslim hendaknya kita mempelajari dengan melakukan pengembangan penelitian terhadap berbagai manfaat yang dapat diambil dari berbagai tumbuh-tumbuhan tersebut yang salah satunya dapat digunakan sebagai terapi hormonal dalam menunjang permasalahan fertilitas pada wanita, karena Allah telah memberikan semua sarana yang lengkap sebagai bukti kekuasaannya. Allah telah menciptakan segala sesuatu di muka bumi dan menundukkannya agar dapat dimanfaatkan oleh seluruh umat manusia. Sebagaimana dijelaskan dalam surat Luqman ayat 20 :

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُم نِعَمَهُ ظَاهِرَةً وَبَاطِنَةً وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ مُّنِيرٍ ﴿٢٠﴾

Artinya : Tidakkah kamu memperhatikan bahwa Allah telah menundukkan apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi untuk (kepentingan)mu dan menyempurnakan nikmat-Nya untukmu lahir dan batin. Tetapi di antara manusia ada yang membantah tentang (keesaan) Allah tanpa ilmu atau petunjuk dan tanpa Kitab yang memberi penerangan (Q.S Luqman [31] : 20)

Dalam tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa Allah SWT telah mengingatkan kepada seluruh makhluk-Nya tentang segala kenikmatan yang telah Allah berikan kepada mereka, yaitu dengan menundukan bagi seluruh umat manusia bintang-bintang yang berada di langit sebagai penerang untuk mereka di malam hari dan siang harinya. Dan Allah menciptakan awan, hujan, salju serta embun yang ada dilangit dan Allah jadikan langit sebagai atap untuk memelihara mereka. Serta Allah telah menciptakan bumi sebagai tempat tinggal mereka yang dilengkapi

dengan tanaman-tanaman, pepohonan, buah-buahan dan juga sungai yang dengan semua itu dilimpahkan segala nikmat dan manfaatnya lahir batin.

Ayat tersebut menurut Ibnu Katsir ditafsirkan sebagai pengingat umat manusia bahwa segala sesuatu yang diciptakan di dunia ini adalah Allah tundukkan semuanya untuk memenuhi segala kebutuhan manusia sebagai khalifah di bumi ini. Lafadz (سَخَّرَ) menurut Zubdatut Tafsir min Fath Al-Qadir memiliki makna bahwa menundukkan adalah memudahkan segala sesuatu tentang pengambilan berbagai manfaat dan kenikmatan yang ada pada langit dan bumi. Salah satunya adalah pengambilan manfaat yang ada pada berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, pohon, dan buah-buahan untuk digunakan sebagai makanan dan obat-obatan. Semua hal ini merupakan wujud dari kasih sayang dan kekuasaan Allah SWT dalam keberlangsungan hidup umat manusia. Ayat ini memiliki kesinambungan dengan Surat Taha ayat 53 yang juga menjelaskan mengenai pengambilan manfaat dari tumbuh-tumbuhan untuk manusia.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾ كُلُوا وَارْعَوْا أَنْعَامَكُمْ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّأُولِي النُّهَى ﴿٥٤﴾

Artinya : (53) (Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. ” Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan. (54) Makanlah dan gembalakanlah hewan-hewanmu. Sungguh, pada yang demikian itu, terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal. (Q.S. Taha [20] : 53-54

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan tumbuhan yang bermacam-macam yang dengan kehendaknya dapat dimanfaatkan oleh manusia. Menurut Syaikh Abdurrahman bin Nashir as-Sa'di menjelaskan bahwa “Dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air itu hujan itu

berjenis tumbuhan yang bermacam-macam” maksud dari dengan menurunkan hujan, kemudian menghidupkan bumi adalah menyuburkan tanah setelah kegersangannya. Dengan air itu, dia menumbuhkan seluruh jenis tumbuhan dengan berbagai perbedaan ragam, bentuk dan perbedaan karakter serta manfaatnya. Hal ini juga dijelaskan oleh Mahalli dan Suyuthi (2000) yang menyatakan dalam kitab tafsir Jalalain bahwa, lafadz “*Syatta*” mempunyai kata sifat dari lafadz “*Azwaajan*” yang berarti tumbuh-tumbuhan atau dalam arti mempunyai perbedaan jenis, rasa, warna dan lain-lain. Maha kuasa Allah dengan segala kekuasaan-Nya dalam menciptakan berbagai jenis tumbuhan bermanfaat yang salah satunya dapat dimanfaatkan sebagai sarana pengobatan dan terapi. Termasuk diantaranya adalah tumbuhan bawang putih, jeringau dan temu mangga yang dapat digunakan sebagai obat terapi dalam menunjang kesuburan wanita.

Pemberian perlakuan nanopartikel ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dengan membandingkan dengan pemberian jamu ekstrak (jamu subur kandungan) dan obat sintetik (klomifen sitrat) secara langsung untuk menunjang fertilitas wanita menunjukkan hasil yang bervariasi dalam mempengaruhi tebal lapisan uterus dan jumlah kelenjar endometrium uterus. Perlakuan dan dosis yang berbeda ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan dan dosis paling efektif dalam tercapainya keseimbangan fisiologis, sehingga dapat digunakan secara efektif untuk meningkatkan kesuburan wanita. Allah telah menjelaskan bahwa segala sesuatu berjalan dengan kadar dan ukurannya. Allah berfirman dalam Surat Al Qamar ayat 49 dan Al-Furqan ayat 2 :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya : *Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.* (QS: Al-Qamar [54] : 49)

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

Artinya : *Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat* (QS : Al- Furqan [25] : 2) .

Menurut Shihab (2002) menjelaskan bahwa pada lafadz (فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا) memiliki makna bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu dan memberikan ukuran dan aturan yang sangat cermat dan berjalan secara teliti dan konstan. Kemudian menurut Mahalli dan Suyuthi dalam tafsir Jalalain menjelaskan bahwa *(dan Dia menetapkan ukuran-ukuran dengan serapi-rapinya)* secara tepat dan sempurna. Sehingga dalam hal ini segala hal yang diciptakan Allah di dunia ini telah diatur dengan tatanan yang teliti, tepat dan seimbang yang berguna untuk kepentingan dan kebaikan hidup manusia. Demikian juga jika manusia menginginkan solusi dalam permasalahan pengobatan harus dilakukan dengan cara dan proses yang teliti agar mendapatkan hasil yang maksimal.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan uraian pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap ketebalan lapisan endometrium uterus mencit (*Mus musculus*) yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan ketebalan tertinggi pada perlakuan P2 (nanopartikel 25 mg/kgBB).
2. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* terhadap peningkatan jumlah kelenjar endometrium mencit (*Mus musculus*) yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan jumlah kelenjar endometrium tertinggi pada perlakuan P2 (nanopartikel 25 mg/kgBB)

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penggunaan dosis yang sama untuk mengetahui jumlah reseptor estrogen yang terdistribusi pada lapisan uterus dengan teknik immunohistokimia.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh peningkatan ketebalan dan jumlah kelenjar endometrium uterus terhadap perkembangan embrio, placenta serta pertumbuhan pada janin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. 2012. Nanopartikel Degan Gelasi Ionik. *Farmaka*. 15(1):45-52.
- Adashi E.Y. 1995. *Clomiphene Citrate Initiated Ovulation*. St Lous Missouri: Mosby.
- Agustini, K. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenumgracum* L.) terhadap Perkembangan Uterus Tikus Putih Betina galur Wistar. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 9(1): 8-14.
- Ahmad, M. 2015. Skrining Aktivitas Antioksidan Jamu Subur Kandungan Komersial. *El-Hayah*. 5(2):89-94.
- Ahmed, T.A., & Aljaeid, B.M. 2016. Preparation, Characterization, and Potential Application of Chitosan, Chitosan Derivates, and Chitosan Metal Nanoparticles in Pharmaceutical Drug Delivery. *Drug Design, Development and Therapy*. 10:483-507.
- A.J. Sitasiwi. 2012. Efek Paparan Tepung Kedelai dan Tepung Tempe sebagai Sumber Fitoestrogen terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L.). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi Dh Sellula*. 17(1)
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Senyawa Aktif Yang berpotensi Sebagai Bahan Anti Infertilitas*. Adabia Press.
- Al-Qasimi, Muhammad Jamaludin. 1957. *Mahasin al-Ta'wil Arab : Dar Haya' al-Kutub al-Arabiyah*.
- Alam, K., Hoq, O., & Uddin, S. 2016. Medicinal plant *Allium sativum* = A Review. 4(6):72-79.
- Al-Asyqar, M.S. 2007. *Kitab Zubdatut Tafsir min Fath Al-Qadir*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Alchalabi, A. 2016. Histopathological Changes Associated with Oxidative Stress Induced by Electromagnetic Waves in Rats Ovarian and Uterine Tissues. *Asian Pasific Journal of Reproduction*. 5 (4).
- Al-Mahalli, Jalaluddin & Jalaluddin As-Suyuthi. 2000. *Tafsir Jalalain. Terj. Bahrun Abu Bakar*. Jakarta: Sinar Baru Algensindo
- Alqahtani, M. S., Kazi, M., Alsenaidy, M. A., & Ahmad, M. Z. 2021. Advances in

- Oral Drug Delivery. *Frontiers in pharmacology*. 12:618411.
- Amit *et al.*, 2015. Medicinal Properties of *Acorus calamus*. *Journal of Drug Delivery & Therapic* 3(3):143-144.
- Anisah, *et al.* 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ripang Jeringau (*Acorus calamus*) terhadap pertumbuhan *Staphilococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Protobiont*. 3(3):1- 5.
- Anderson, G. J., & McLaren, G. D. 2012. *Iron Physiology and Pathophysiology in Humans*. New York : Humana Press.
- Arekemase, M.O., Adetitun, D. O., Oyeyiola, G. P. 2013. In vitro Sensitivity of Selected Enteric Bacteria to Extracts of *Allium sativum* L. *Not. Sci. Bio*. 5(2):183-188.
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P. and Bast, A. 2004. Antioxidant Capacity of Reaction Products Limits the Applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assay. *Food and Chemical Toxicology*. 42(45).
- Ariviani, S., Andriani, Fitri, Y. 2013. Potensi Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Sebagai Minuman Fungsional. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2 (3) : 27-28.
- Assa'idah, N. M. 2018. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Allium Sativum, Curcuma Mangga, Dan Acorus Calamus Terhadap Lama Fase Estrus Dan Proliferasi Epitel Vagina Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Cisplatin*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- As-Sa'di, Abdur-Rahman Nasir. 2018. *Tafseer as-Sa'di Vol. 7 (Juz 19-21)*. English Edition 1. Translator: Nasiruddin al-Khattab. Beirut : Samo Press Group.
- B Yilmaz S, Sezer NY, Gönenc İM, İlhan SE, Yilmaz E. 2018. Safety of Clomiphene Citrate: A Literature Review. *Cytotechnology*. 70:489-495.
- Balakumbahan, R., Rajamani, K., & Kumanan, K. 2015. *Acorus calamus* : An overview. *J Med. Plant Res*. 4(25): 2740-2745.
- Balen AH, Morley LC, Misso M., 2016. The Management Of Anovulatory Infertility In Women With Polycystic Ovary Syndrome: An Analysis Of The Evidence To Support The Development Of Global WHO Guidance. *Hum Reprod Update*. 22:687–708.
- Bangun, W. 2012. *“Manajemen Sumber Daya Manusia”*. Jakarta: Erlangga.

- Barragán, A.B., Zafar, N., Badri, W., Kabbaj, D., Fessi, H., Elaissari A. 2016. Plant extracts: from encapsulation to application. *Expert Opin Drug Deliv.* 13(8): 1165-75.
- Barua, C. C., Sen, S., Das, A. S., & Talukdar, A. 2014. A Comparative Study of the In Vitro Antioxidant Property of Different Extracts of *Acorus calamus* Linn. *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 4(1).
- Beshay V.E, Bruce R. 2013. Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis and Control of the Menstrual Cycle. In: Falcone CT, Hurd WW (eds.). *Clinical Reproductive Medicine and Surgery: A Practical Guide*. New York: Springer Science.
- Basyier, Abu Umar. 2011. *Kedokteran Nabi Antara Realita & Kebohongan*. Surabaya : Shafa Publika.
- Bhumkar DR. dan Pokharkar VB. 2006. Studies On Effect Of Ph On Cross-Linking Of Chitosan With Sodium Tripolyphosphate: A Technical Note. *AAPS PharmSciTech.* 7(2): E1-E6.
- Bhusane K, Bhutada S, Chaudhari U, Savardekar L, Katkam R, Sachdeva G. 2016. Secrets of endometrial receptivity: some are hidden in uterine secretome. *Am J Reprod Immunol.* 75: 226-236.
- Biben. 2012. *Fitoestrogen: Khasiat Terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi dan Keamanan Penggunaannya*. Universitas Padjajaran. Bandung
- Burton, J.L dan Wells, M. 2012. The Effect of Phytoestrogens on the Female Tract. *J. Clin. Pathol.* 55: 401-407
- Busman, H. 2013. Histologi Ulas Vagina Dan Waktu Siklus Estrus Masa Subur Mencit Betina Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki. 371 - 375.
- Buzea, Cristina; Ivan I. Pacheco; Kevin Robbie. 2007. Nanomaterials And Nanoparticles: Source And Toxicity. *Bionterphases.* 2 : 1934-8630
- Cavalcanto, T.D. 2007. Hormone Regulated Inflammatory of the Immature Rat Uterus in Response To Leukocyte Infiltration and MMP Activation. *Journal of ProQuest.* 1(1).
- Chrousos, G.P. 2004. *The Gonadal Hormones and Inhibitors*. New York: McGraw Hill
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. 2019. Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana*

- L.) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 7(4):551.
- Cooke. 1998. Mechanism of Estrogen Action: Lessons from the Estrogen Receptor- α Knockout Mouse. *Biology of Reproduction*. Vol. 59
- Cicilia. 2013. Hubungan Dismenore dengan Aktivitas Remaja Putri di SMA Kristen 1 Tomohon. Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado: *E-joernal Keperawatan*. Vol. 1.
- Ciptono dan Suhandoyo. 2017. Pengaruh Pemberian Sakarin Terhadap Morfometri Fetus Putih (*Rattus norvegicus* L.). *Jurnal Prodi Biologi*. 6 (1)
- Cunha, A., & Póvoa, A. M. 2021. Infertility management in women with polycystic ovary syndrome: a review. *Porto biomedical journal*, 6(1):e116.
- Dellman, H.D. dan Brown, E.M. 1992. Buku Teks Histologi Veteriner. Missouri. Hal. 108-115.
- Delosantos, M. R. 2012. The Use of Traditional Chinese Medicine as an Adjunct to Western Fertility Treatments for the Management of Female Infertility. Theses, Dissertations and Capstone Projects. USA: A Clinical Graduate Project Submitted to the Faculty of the School of Physician Assistant Studies Pacific University Oregon.
- De Paz, L.E.C., Anton R., Kenneth A.H., Duncan S.S., & Peter L.W. 2011. Antimicrobial Effect of Chitosan Nanoparticles on *Streptococcus mutans* Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 77.
- Dewantari, R., Monika, L. dan Nurmiyati. 2018. Jenis Tumbuhan yang Digunakan sebagai Obat Tradisional Di Daerah Eks Karesidenan Surakarta. *BIOEDUKASI*. 11(2):118-123.
- Devi, S. A., & Deepak G. 2009. Antimicrobial Activity of *Acorus calamus* (L.) Rhizome and Leaf Extract. *Acta Biologica Szegediensis*. 53(1):45-59.
- Devi, C. Subathra, Arindam Tarafder, Etee Shishodiya, Mohanasrinivasan. 2015. Encapsulation of staphylokinase and Leucasaspera plant extracts using chitosan nanoparticles. *Int. J. PharmTech Res*. 7(4):654-661.
- Divya, B., Bukke, S., Venkataswamy, M., & Beeram, E. 2017. The Role Of *Allium Sativum* (Garlic) In Various Diseases And Its Health Benefits: A Comprehensive Review. *Internitonal Journal of Advanced Research (IJAR)*.

5(8):592-602.

- Ekor, M. 2014. The Growing Use Of Herbal Medicines: Issues Relating To Adverse Reactions And Challenges In Monitoring Safety. *Front Pharmacol.* 4: 177
- Fait T. 2019. Menopause Hormone Therapy: Latest Developments And Clinical Practice. *Drugs in context.* 8 : 212551.
- Farooq, A. 2015. Structural and Functional Diversity of Estrogen Receptor Ligands. *Current Topics in Medicinal Chemistry.*15(14).
- Fuentes, N., & Silveyra, P. 2019. Estrogen Receptor Signaling Mechanism. *Advances In Protein Chemistry And Structural Biology.* 116:135-170.
- Filant, Justyna and Thomas E. Spencer. 2013. Endometrial Glands Are Essential for Blastocyst Implantation and Decidualization in the Mouse Uterus. *Biology Of Reproduction.* 88(4): 93.1 - 9.
- Garg, U., Chauhan, S., Nagaich, U., & Jain, N. 2019. Current Advances in Chitosan Nanoparticles Based Drug Delivery and Targeting. *Advanced pharmaceutical bulletin.* 9(2):195-204.
- Gazuwa, S. Y., Makanjuola, E. R., Jaryum, K. H., Kutshik, J. R., & Mafulul, S. G. 2013. The Phytochemical Composition of *Allium cepa*/*Allium sativum* and the Effects of Their Aqueous Extracts (Cooked and Raw Forms) on The Lipid Profile and other Hepatic Biochemical Parameters in Female Albino Wistar Rats. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 4 (3).
- Goldfien A. Ovaries. In: Greenspan FS, Gardner DG. 2001. *Basic & clinical endocrinology.* 6th ed. New York : Mc Graw Hill.p.453-508.
- Gruber CJ, Tschugguei W, Schneebecker C, Huber JC. 2002. Production And Action Of Estrogens. *N Engl J Med.* 346:340-50.
- Gupta MC, Khanna J. 2018. Clomiphene Citrate: The Changing Landscape. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology.* 7 (8) : 1437-1433.
- Guyton, A.C. 1995. *Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit.* Penerjemah Petrus Andriyanto. Jakarta : EGC.
- Guyton A.C. and J.E. Hall 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Habibah, A.A. 2017. Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya*, L.) Terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium, Jumlah Eritrosit Dan Lekosit Pada Tikus

- Putih (*Rattus norvegicus*) Betina. *Jurnal Prodi Biologi*. 6(4):4
- Hafez B. 2000. Anatomy of female reproduction. Di dalam: Hafez B, Hafez ESE, editor. *Reproduction in Farm Animal Ed ke-5*. USA: Lippincott Williams and Wilkins. Hal. 13-29.
- Haibin, W., T. Sussane, X. Huirong, H. Gregory, K.D. Sanjoy and K.D. Sudhansu. 2005. Variation in Commercial Rodent Diets Induces Disparate Molecular and Physiological Changes in The Mouse Uterus. *PNAS*. 28(102):9960-9965
- Handayani, S. (2008). Islam, kesehatan dan lingkungan hidup: Studi tentang jamu Madura. *Karsa: Jurnal Sosial dan Budaya Keislaman*. 161-174.
- Hamid, A.A. 2010. Antioxidant: Its Medical and Pharmacological Application. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 4(8).
- Hanafiah, H. 2010. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Edisi Ketiga*. Jakarta: Rajawali Press.
- Harmita dan Radji, Maksum. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta :EGC
- Hartati, Sri, Atiek Soemiati dan Eka Irmawati A. 2012. Isolasi β -asarone Dari Rimpang Dringo (*Acorus calamus*) Serta Uji Aktivitas Antimikroba. *Jurnal bahan Alam Indonesia*. 8(2):85.
- Hariana, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haryanto, W. Pertiwi, dan N. Ihsani, “Siklus Estrus Mencit Betina Virgin (*Mus musculus*) Strain BALB/c setelah Terpapar Berbagai Jenis Sound”. *JSTE*. 1 (2) : 127–133.
- Heffner, Linda J dan Schust, Danny J. 2006. *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi Kedua*. Jakarta : Erlangga.
- Hermawati, H. 2014. Perbaikan Kinera Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai. Bnadung: FPMIPA UPI.
- Hernani dan M. Rahardjo. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hill, E. K., & Li, J. 2017. Current And Future Prospects For Nanotechnology In Animal Production. *Journal Animal Sci Biotechnol*. 8 (26).
- Hiroi, H., Tsutsumi, O., Momoeda, M., Takai, Y., Osuga, Y., & Taketani, Y. 1999. Differential interactions of bisphenol A and 17 β -estradiol with estrogen

- receptor α (ER α) and ER β . *Endocrine journal*. 46(6):773-778.
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Penerjemah. Harya Putra. Bandung : Penerbit ITB.
- Ibnu Katsir. H.I.A.F. 1994. *Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir*, Penerjemah M. Abdul Ghoffar dan Abu Ihsan al-Atssari. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Indarwati, I., Retno, U., Hastuti, B., Lanti, Y., & Dewi, R. 2017. Analysis of Factors Influencing Female Infertility. *Journal of Maternal and Child Health*. 2(2): 150-161.
- Ismudiono., Srianto, P., Anwar, H., Madyawati, P.S., dan Safitri, E. 2010. *Buku Ajar Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 55-56.
- Jain, P. K., Lee, K. S., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. 2006. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *The journal of physical chemistry B*. 110(14): 7238-7248.
- Jannah, R. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kombinasi *Acorus calamus*, *Curcuma mangga* Dan *Allium sativum* Terhadap Kadar SOD dan MDA Ovarium Tikus Putih Betina. Skripsi. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Jhaveri,, Jhanvi & Raichura, Zarna & Khan, Tabassum & Momin, Munira & Omri, Abdelwahab. 2021. Chitosan Nanoparticles-Insight into Properties, Functionalization and Applications in Drug Delivery and Theranostics. *Molecules*. 26:272.
- Jumiarni. 2017. Inventory Of Medicinal Plants As Utilized By Muna Tribe In Kota Wuna Settlement. *Traditional Medicine Journal*. 22(1):45-46
- Kaban, J., Hakim B., Asteria K.D., & Daniel. 2006. Pembuatan Membran Kompleks Polielektrolit Alginat Kitosan. *Jurnal Sains Kimia*. 10(1).
- Kamazeri, Siti Amirah, Othman Abd Samah, Muhammad Taher, Deny Susanti, Haitham Qaralleh. 2012. Antimicrobial Activity And Essential Oils Of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* From Malaysia. *Asian Pac. J. Of Trop. Med*. 12:202-209.
- Kashani L., Akhondzadeh, S. 2017. Female Infertility and Herbal Medicine. *J. Med*.

Plants. 16(61):12-16

- Katria, Y. 2006. Ekstraksi dan Identifikasi Komponen Sulfida Pada Bawang Putih. *Tesis*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Kelleher AM, DeMayo FJ & Spencer TE. 2019. Uterine Glands: Developmental Biology and Functional Roles in Pregnancy. *Endocr. Rev.* 40:1424-1445.
- KEMENAG RI. 2020. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*, Bandung: Diponegoro.
- Khairiyah, R. 2012. Pengaruh Ginestein Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen α & β pada Kultur Sel Endometriosis. *Majalah Obstetri & Ginekologi*. 22(2).
- Khare, C. P. 2004. *Indian Herbal Remedies: Rational Western Theraphy, Ayurvedic and Other Traditional Usage, Botany*. Springer-Verlag Berlin/Heideberg. New York.
- Koukaras, E.N., Sofia A.P., Dimitrios N.B., & George E.F. 2012. Insight On The Formation of Chitosan Nanoparticles Through Ionotropic Gelation with Tripolyphosphate. *Molecular Pharmaceutics*. 9:2856-2862
- Kritika, Kesarwani & Rajiv, G. 2013. Bioavailability Enhancers Of Herbal Origin : An Overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine Journal*, 3(4): 253-266.
- Křížová, L., Dadáková, K., Kašparovská, J., & Kašparovský, T. 2019. Isoflavones. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 24(6):1076.
- Kostelac D, Rechkemmer G, Briviba K. 2003. Phytoestrogens Modulate Binding Response Of Estrogen Receptors Alpha And Beta To The Estrogen Response Element. *J Agric Food Chem*.51(26):7632-5.
- Kulkarni, S. A., & Feng, S. S. 2013. Effects of particle size and surface modification on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles for drug delivery. *Pharmaceutical research*, 30(10) :2512–2522.
- Kumar, S. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: an Overview. *Hindawi Publishing Corporation the Saintific Would Journal*. Vol. 1.
- Kumar, P., & Sait, S. F. 2011. Luteinizing hormone and its dilemma in ovulation induction. *Journal of human reproductive sciences*. 4(1):2-7
- Lecomte, S., Demay, F., Ferrière, F., & Pakdel, F. 2017. Phytochemicals Targeting Estrogen Receptors: Beneficial Rather Than Adverse Effects. *International journal of molecular sciences*. 18(7):381.

- Lailiyah, A. Q. A. 2018. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Temu Mangga (*Curcuma Mangga*) Dan Jeringau (*Acorus Calamus*) Terhadap Histologi Uterus Tikus (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Cisplatin. In *Journal Of Chemical Information And Modeling*. <https://doi.org/10.1017/Cbo9781107415324.004>
- Lavery, S. 2003. Drugs Used In Reproductive Medicine. *Cuur Obstert Gynaecol.* 13:355-361
- Lilian, U, Thompson, Beatrice A, Boucher, Zhen Liu, Michelle Cotterchio, and Nancy Kreiger. 2006. Phytoestrogen Content of Foods Consumed in Canada, Including Isoflavones, Lignans, and Coumestan. *Nutrition And Cancer*. 54 (2)
- Liputo, K. P. 2006. Studi Histopatologi Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Organ Reproduksi Betina Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- López, L.T., Carvalho, E.L.S., Seijo B., OrtegaVinueza JL., Bastos-Gozález D. 2005. Physicochemical Characterization Of Chitosan Nanoparticles: Electrokinetic And Stability Behavior. *J. Colloid and Interface Sci.* 283: 344-351
- Malo, M., Sabuna Ch., Ngginak, J. Tumbuhan Obat Untuk Kesehatan Reproduksi di Kecamatan Kuantana Kabupaten TTS 2017. *Media Farmasi Indonesia*. 12(2):233–1247.
- Malole, M.B.M dan Pramono C.S.U., 1989. Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Mahmoudi, Souhila, Mustapha Khalli, Abderahim Benkhaled, Karima Benamirouche, Imen Baiti. 2016. Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian *Ficus carica* L. Varieties. *Asian Paci. J. Trop. Biom.* 6(3): 239-245.
- Mangkoewidjojo, S., 1988, Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Manuaba, 2002. *Ilmu Penyakit Kandungan dan Keluarga Berencana Untuk Pendidikan Bidan*. EGC. Jakarta: Rineka Cipta Hal. 201-204
- Mardyana, P. 2017. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Acorus calamus (L.), Temu Mangga Curcuma mangga Val., Dan Bawang Putih*

Allium sativum (Linn.) Terhadap Histologi Uterus dan Tuba Fallopii Tikus Putih. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Martien, R., Adhyatmika, Iramie D.K.I., Verda F., & Dian P.S. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*. Vol 8(1).

Martín-Coello, J., González, R., Crespo, C., Gomendio, M., & Roldan, E. R. 2008. Superovulation and in vitro oocyte maturation in three species of mice (*Mus musculus*, *Mus spretus* and *Mus spicilegus*). *Theriogenology*. 70(6):1004-1013.

Monhanraj, V.J. & Y. Chen. 2006. Nanoparticles- A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5(1):561-573.

Moriwaki, K., & Shiroishi, T. 1994. *Genetics in Wild Mice Application to Biomedical Research*. Karger Tokyo : Japan Scientific Societies Press.

Morel, D dan Mina, CG. 2008. *Equine Reproductive Physiology, Breeding, and Stud Management Ed ke-3*. USA: CAB International.

Muchsin, R. 2009. Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamate terhadap Histologi Endometrium Mencit (*Mus musculus*) [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara Medan.

Muchtaromah, B., Alfiah, H., dan Erna, A. 2017. Phytochemicals, Antioxidant and Antifungal Properties of *Acorus calamus*, *Curcuma mangga*, and *Allium sativum*. *The Veterinary Medicine International Conference. KnE Life Sciences*. Vol. 17

Muchtaromah B., Ahmad M, Jannah, R., El Syahas, ES., Mardiana, P., Sofiyah dan Desy, R. 2018. Pengaruh Kombinasi Ekstrak ethanol *A. sativum*, *A. calamus* dan *C. mangga* terhadap Fertilitas Tikus Betina (*Rattus norvegicus*). Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Muchtaromah, B., 2020. Efficacy of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* Extract Combination on Rat Fertility. *Pharmacognosy Journal*. 12(1):97-203.

Mulyati, B. 2016. Studi Komputasi Interaksi Isoflavon dengan Reseptor Estrogen β Menggunakan Metode Oniom. *Edu Chemia. Jurnal Kimia dan Pendidikan*,

1(2):137- 148.

- Mustofa, I., Mahaputra, L., Dachlan, Y.P., Rantam, F.A. Sarwono, Widjiati dan Hinting, A. 2006. Antibodi Protein Zona Pellusida-3 Kambing (Gzp3) Asal mencit (*Mus musculus*) mencegah Fertlisasi In Vitro Oosit Mencit Sebagai Hewan Coba. *J. Sain Vet.* 24(1):43.
- Naseri, Nosar., M. Ziora, Z.M. 2018. Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. *Carbohydr. Polym.* 189:379-398.
- National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 1548953, Clomiphene. Retrieved June 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clomiphene>.
- Nugroho, Taufan, Utama, Indra B. 2014. *Masalah kesehatan reproduksi wanita*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Nuratmi, B., Nugroho, Y. A., Sundari, D. 2006. Efek Antidiare Jus temu Putih, (*Curcuma zedoria* Rosc.) dan Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val. Et. Zipp.) Pada Tikus Putih. *Media Litbang Kesehatan*.
- Nurlaila, S. 2011. Jamu Madura: Eksistensi, Ekspektasi Dan Realitas Pengembangannya Dalam Perspektif Produsen Dan Konsumen. *Fakultas Pertanian Universitas Madura*. 1(5).
- Olooto, W. E. Ambali, A.A., Banjo, T.A. 2015. A review of Female Infertility ; Important Etiological Factors And Management. *J Microbiol Biotech Res.* 2(3):379-385.
- Onasis, A. 2001. Pemanfaatan Minyak Jeringau (*Acorus calamus* L) untuk Membunuh Kecoak (*Periplaneta americana*). *Skripsi*. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Pakasi, S.E. dan Christina, dan L. Salaki. 2013. *Budidaya yang Baik Tanaman Karumenga (Acorus calamus)*. Sam `Ratulangi: Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi.
- Pakki, E., Sumarheni, S., F, A., Ismail, I., & Safirahidzni, S. 2016. Formulasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) Dengan Variasi Konsentrasi Kitosan Tripolifosfat (TPP). *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*. 3(4):252-259.

- Palomino, W Alberto. 2005. Differential Expression of Endometrial Integrins and Progesterone Receptor During the Window of Implantation in Normo-Ovulatory Women Treated with Clomiphene Citrate. *Infertility and Sterility*. 83(3).
- Pamungkas, F.A dan Wina, E. 2015. Karakteristik dan Aplikasi Partikel Nano dalam Manipulasi Hormon Reproduksi pada Ternak. *WARTAZOA*. 25(4):171-180.
- Partodihardjo. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta : Mutiara Sumber Widya.
- Paul S. Cooke, Thomas E. Spencer, Frank F. Bartol, Kanako Hayashi. 2013. Uterine Glands: Development, Function And Experimental Model Systems. *Molecular Human Reproduction*. 19(9):547–558.
- Pawiroharsono, S. 1998. Metabolisme Isoflavon dan Faktor-II Pada Proses Pembuatan Tempe. *Prosiding Simposium Nasional Pengembangan Tempe Dalam Industri Pangan Modern*. UGM. Yogyakarta
- Pineda, MH dan Dooley, MP. 2003. *McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction Ed ke-5*. Iowa: Blackwell Publishing Company.
- Policegoudra R,S., Aradhya S,M., Singh L. 2011. Mango ginger (*Curcuma amada Roxb.*) a Promising Spice For Phytochemicals And Biological Activities. *J Biosci*. 36(4):739-748.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM). 2013 Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril*. 100(2):341-348.
- Pramesti, N. A., Restiadi, T. I., Yudhana, A., Hernawati, T., Hamid, I. S., Purnama, M. T. E. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Jumlah Pertumbuhan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Medik Veteriner*. 1(3).
- Purbowatiningrum, Ngadiwiyana, Ismiyarto, E Fachriyah, I Eviana, O Eldiana, N Amaliyah, A N Sektianingrum. 2017. Antidiabetic Activity from Gallic Acid Encapsulated Nanochitosan. *Mat. Sci. Eng*. 172(1):29-42.
- Puspitadewi, S dan Sunarno. 2007. Potensi Agensia Anti Fertilitas Biji Tanaman Jarak (*Jatropha curcas*) dalam Mempengaruhi Profil Uterus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster. *Jurnal Sains dan Matematika*. 15(2):55-60.

- Rabea, E.I., Mohamed E.T.B., Christian V.S., Guy S., & Walter S. 2003. Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. *Biomacromolecules*. 4(6).
- Rahmawati, R. 2012. Keampuhan Bawang Putih Tunggal (Bawang Lanang). Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Rajput, Sandeep B., Madan B. Tonge, S. Mohan Karuppayil. 2014. Review: An Overview on Traditional Uses and Pharmacological Profile of *Acorus calamus* Linn. (Sweet flag) and Other *Acorus* Species. *Phytomedicine*. Vol 21.
- Ramadon, D. 2016. Pemanfaatan Nanoteknologi dalam Sistem Penghantaran Obat Baru untuk Produk Bahan Alam (Utilization of Nanotechnology in Drug Delivery System for Natural Products). 14(2):118–127.
- Rather MA, Sharma R, Gupta S, Ferosekhan S, Ramya VL, Jadhao SB. 2013. Chitosan-nanoconjugated hormone nanoparticles for sustained surge of gonadotropins and enhanced reproductive output in female fish. *PLoS One*. 8 :1-10.
- Rawat, M., Deependra S., S. Saraf., & Swarnlata S. 2006. Nanocarriers: promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biol.Pharm.Bull*. 29(9).
- Rendi, M. H., Muehlenbachs, A., Garcia, R. L., & Boyd, K. L. 2016. *Female Reproductive System. Comparative Anatomy and Histology* (First Edition). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381361-9.00017-2>
- Rita, W. S., Kawuri, R., & Swantara, I. M. D. 2017. The Essential Oil Contents Of Jeringau (*Acorus calamus* L.) Rhizomes And Their Antifungal Activity Against *Candida albicans*. 1(1):33–38.
- Roberts, G.A.F. 1992. *Chitin Chemistry*. Houndmills, Basingstoke, Hampshire RG21 2XS and London: The Macmillan Press Ltd.
- Rusmiati, 2010. Pengaruh Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibethius* Murr.) Pada Struktur Mikroanatomi Ovarium Dan Uterus Mencit (*Mus musculus* L) Betina. *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*. 4 (2).
- Rusmiati. 2011. Uji Efek Antifertilitas Fraksi N- Heksan Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Durian (*Durio Zibethinus* Murr) Pada Struktur Histologi Uterus Mencit (*Mus Musculus* L). *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia* 5(1):1-7.
- Rustini, N. L. 2010. Aktivitas Antijamur Minyak Atsiri Rimpang Dringo (*Acorus*

- Calamus L.) Terhadap Jamur Botryodiplodia Theobromae Penyebab Busuk Buah Pisang. Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.*
- Safithri, F., Ali, M., Hidajat, A., S, Setyawati. 2005. Efek Isoflavon dari Ekstrak *Pueraria lobata* terhaap Memori dan Aktivitas Kolinergik di Hippokampus CA1 pada Tikus Hipoestrogen. *Tesis*. Malang: Program Studi Biomedik Pascasarjana Universitas Brawijaya.
- Safrina, D., & Supriadi, B.2019. Efektivitas metode blansir terhadap peningkatan kualitas simplisiatemu mangga (*Curcuma mangga* val.) setelah masa simpan. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*. 16(1):25–30.
- Salahuddin, M.S., dkk., 2019. Pengaruh Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Proliferasi Lapisan Endometrium Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Medik Veteriner*. 2(1):49-54.
- Samuelson, DA. 2007. *Textbook of Veterinary Histology*. Missouri: Saunders Elsevier Inc.
- Sarwono. 1994. *Ilmu Kandungan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawihardjo. Hal : 544-643.
- Speroff L, Glass RH, Kase NG.1994. *Induction of ovulation*. In: Mitchell C, Reter R, Stewart J, Magee RD, editors. *Clinical gynecologic endocrinology and fertility*. 6th ed. Baltimore :William & Wilkins. Hal :1097-132.
- Satriyati, E. 2017. Menjaga Tradisi Minum Jamu Madura Dengan Penyampaian Pesan. *Interpersonal Kesehatan* . 10(2):24–35.
- Savitri, E. S. 2015. Uji Antifungi Ramuan Tradisonal Madura “Subur Kandungan. *Al-Kunyah Jurnal Biologi*. 8(1):1-5.
- Seidemann, J. 2005. *World Spice Plants, Economic Usage, Botany, Taxonomy*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. (Online). Diakses pada 23 Desember 2019.
- Sekhri, K., Nandha, R., & Bhanwra, S. 2013. Herbal products: a survey of students' perception and knowledge about their medicinal use. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2(1):71-76.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholikhah, E. N., & Mada, U. G. 2017. Indonesian medicinal plants as sources of

- secondary metabolites for pharmaceutical industry, (May)
<https://doi.org/10.19106/JMedSci004804201606>
- Singh, V. K., & Singh, D. K. 2008. Pharmacological Effect of Garlic (*Allium sativum* L). *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*. 10:6-26
- Singh, A., Mittal A., & Benjakul, Soottawat. 2021. Chitosan nanoparticles: Preparation, Food Applications And Health Benefits. *ScienceAsia*. 47:1-10.
- Sitasiwi, A. Janika. 2008. *Efek Paparan Tepung Kedelai dan Tepung Tempe sebagai Sumber Fitoestrogen terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus Mencit (Mus musculus L.)*. Semarang : Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi F. Mipa UNDIP.
- Slomianka, Lutz. 2009. Blue Histology: Male Reproductive System. School of Anatomy and Human Biology, The University of Western Australia.
<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au>. [25 November 2019]
- Smith, J. B dan Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan. Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press
- Sonjaya, Herry. 2013. *Dasar Fisiologi Ternak*: IPB Press
- Stavělíková, H. 2008. Morphological Characteristics Of Garlic (*Allium Sativum* L.) Genetic Resources Collection – Information, (0002700602). 130-135.
- Stennis, V.CGGJ.2008.*Flora*, Cetakan ke-7. Jakarta: PT. Pradnya Paramita
- Sudewo. 2006. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka
- Suhartono, Eko, Ella Viani, Mustaqim Apriyansa Rahmadhan, Imam Syahuri Gultom, Muhammad Farid Rakhman and Danny Indrawardhana. 2012. Total flavonoid and Antioxidant Activity of Some Selected Medicinal Plants in South Kalimantan of Indonesian. *APCBEE Procedia*. 4:235-239
- Suhandoyo dan Ciptono. 2009. *Materi E-Learning Reproduksi dan Embriologi Hewan*. Yogyakarta: FMIPA UNY.
- Suheimi. 2007. Fisiologi Folikulogenesis dan Ovulasi. *Dalam Makalah pada Symposium Pertemuan Ilmiah*. Jakarta.
- Suparman, E. 2006. Fitoestrogen/HRT: Pro Dan Kontra. *Jurnal Ilmiah*. Manado: Universitas Sam Ratulagi.
- Supranto, M.A. 2000. *Teknik Smpling Untuk Survey Dan Eksperimen*. Jakarta : PT

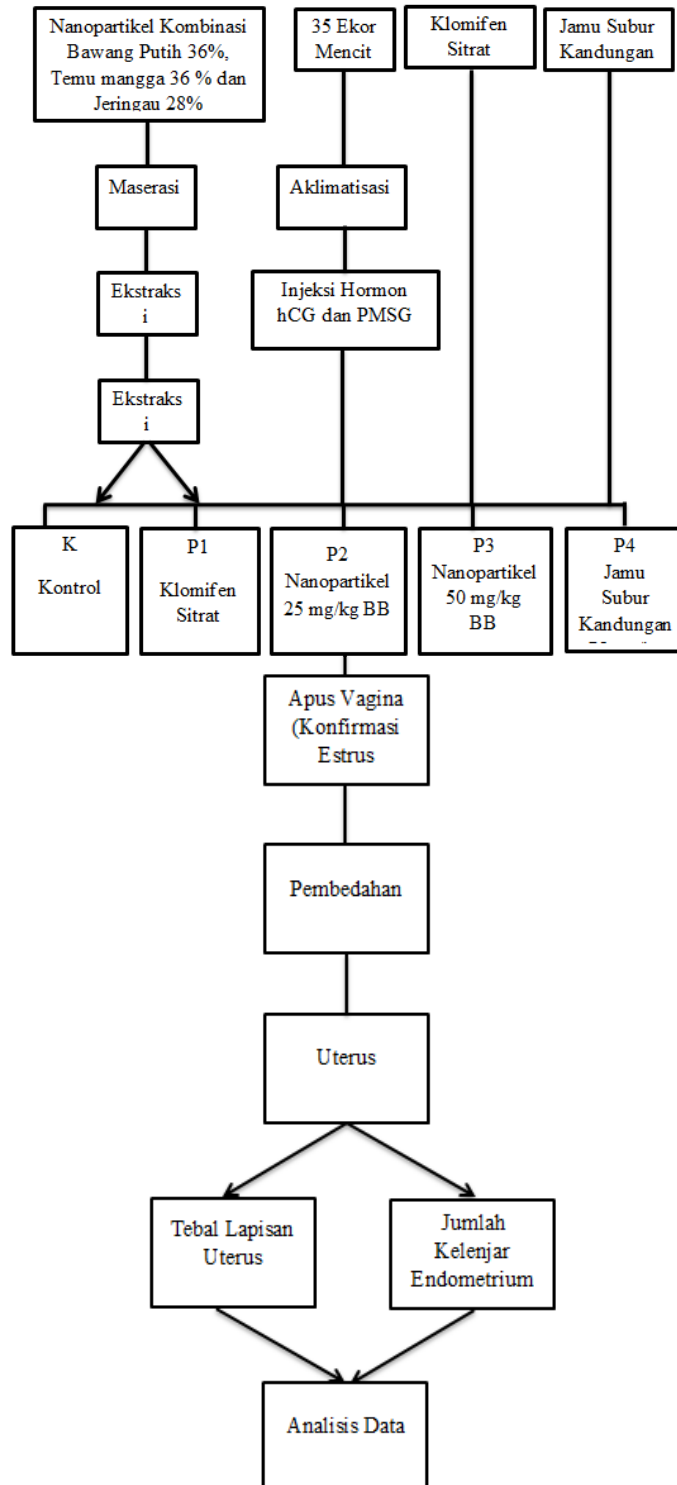
Penerbit Rineka.

- Sugita, P., dkk., 2009. *Kitosan: Sumber Biomaterial Masa Depan*. IPB Press, Bogor.
- Syukur, C. 2003. *Temu Putih: Tanaman Obat Antikanker*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tarigan, J.B, Zuhra, C. F dan Sihotang, H. 2008. Skrining Fitokimia Tumbuhan yang Digunakan oleh Pedagang Jamu Gendong untuk Merawat Kulit Wajah di Kecamatan Medan Baru. *Jurnal Biologi Sumatera*. 3 (1).
- Tedjo, A.D., Sajuthi. 2005. Aktivitas Kemoprevensi Ektrak Temu Mangga. *Makara Kesehatan*. Vol. 9.
- Torrens-Mas M, Roca P.2020 Phytoestrogens for Cancer Prevention and Treatment. *Biology. Basel*. 9(12):427.
- Umami, Riza, D Pande Made., Winarsih Sri., 2013. Pengaruh Vitamin C dan E terhadap Histologi oviduk pada Tikus yang Dipapar MSG. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 28(2).
- Untari, Ida. 2010. Bawang Putih Sebagai Obat Paling Mujarab Bagi Kesehatan. *Jurnal Gaster*. 7(1):547-554.
- Wahyuni, A., Kadir, A., dan Najib, A. 2012. Isolasi dan identifikasi komponen kimia fraksi N-heksana dalam tumbuhan jeringau (*Acorus calamus* Linn.). *AsSyifaa*. 4(1):58-64.
- Wennerberg, A., Jimbo, R., Allard, S., Skarnemark, G., & Andersson, M. 2011. In vivo stability of hydroxyapatite nanoparticles coated on titanium implant surfaces. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 26(6).
- Xue, M., Zhao, Y., Li, X., Jiang, Z., Zhang, L., Liu, S., Yang, S. 2012. European Journal of Pharmaceutical Sciences Comparison of toxicokinetic and tissue distribution of triptolide-loaded solid lipid nanoparticles vs free triptolide in rats. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*. 47(4):713-717.
- Yatim, W. 1996. *Reproduksi dan Embriologi*. Bandung: Tarsito.
- Yilmaz, Nafiye & Kilic, Sevtap & Madendag, Yusuf & Madendağ, İlknur & Özgün, Aylin & Özaksit, Gülnur & Batioğlu, Sertaç & Zekai, Dr & Burak, Tahir. (2010). Endometrial parameters in IVF and IUI administration on elderly women. *Turk J Med Sci*. 40. 10.3906/sag-0811-39.

- Yuandani dan Edy, S. 2017. Immunomodulatory Effects of Ethanol Extract of Curcuma Mangga Rhizomes in Mice. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 10(9):148-150.
- Zhang, G., Qin, L., & Shi, Y. 2007. Derived Phytoestrogen Flavonoids Exert Beneficial Effect on Preventing Bone Loss in Late Postmenopausal Women: A 24-Month Randomized, Double-Blind and Placebo-Controlled Trial, 22(7):1072–1079.
- Zhang JM, Liao W, He YX, He Y, Yan D, Fu CM.. 2013. Study on intestinal absorption and pharmacokinetic characterization of diester diterpenoid alkaloids in precipitation derived from fuzi-gancao herb-pair decoction for its potential interaction mechanism investigation. *J. Ethnopharmacol.* 147(1): 28-35.
- Zhang, J., Igho, J., Onakpoya, Paul, P., and Mohamed Eddouks. 2015. The Safety of Herbal Medicine: From Prejudice to Evidence. *Evidence Based Complem. Altern. Med.* 2015 (3).
- Zhao, E., & Mu, Q. 2011. Phytoestrogen biological actions on Mammalian reproductive system and cancer growth. *Scientia pharmaceutica*, 79(1):1-20.
- Zohar, Y., & Mylonas, C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*. 19(7):99-136.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Data Hasil Analisis Statistik Tebal Endometrium

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PERLAKUAN	ENDOMETRIUM
N		25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0000	220.6420
	Std. Deviation	1.44338	30.88163
	Absolute	.156	.101
Most Extreme Differences	Positive	.156	.101
	Negative	-.156	-.088
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.504
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.961

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

ENDOMETRIUM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.672	4	20	.619

Keterangan : Sig 0.619 > 0,05 = Variansi data homogen.

c. One way ANOVA

ANOVA

ENDOMETRIUM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10558.823	4	2639.706	4.282	.012
Within Groups	12329.372	20	616.469		
Total	22888.195	24			

Keterangan : signifikan $0.012 < 0,05 = H_1$ diterima, H_0 ditolak, maka terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian perlakuan nanopartikel terhadap tebal endometrium

ENDOMETRIUM

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KONTROL (K-)	5	187.6260		
P4 (Jamu)	5	209.9320	209.9320	
P3 (Nano 50)	5		226.1860	226.1860
P1 (klomifen sitrat)	5		231.1500	231.1500
P2 (Nano 25)	5			248.3160
Sig.		.171	.216	.197

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 3. Data Hasil Analisis Statistik Tebal Miometrium**a. Uji Normalitas****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PERLAKUAN	MIOMETRIUM
N		25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0000	73.9212
	Std. Deviation	1.44338	10.95310
	Absolute	.156	.140
Most Extreme Differences	Positive	.156	.140
	Negative	-.156	-.092
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.700
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.711

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

b. Uji Homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

MIOMETRIUM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.593	4	20	.215

Keterangan : Sig 0.215 > 0,05 = Variansi data homogen

c. **One way ANOVA**

ANOVA

MIOMETRIUM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	429.927	4	107.482	.878	.495
Within Groups	2449.364	20	122.468		
Total	2879.291	24			

Keterangan : signifikan $0,495 > 0,05 = H_1$ ditolak, H_1 diterima, maka tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian perlakuan nanopartikel terhadap tebal endometrium

Lampiran 4. Data Hasil Analisis Statistik Tebal Perimetrium

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PERLAKUAN	PERIMETRIUM
N		25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0000	93.7548
	Std. Deviation	1.44338	10.64529
	Absolute	.156	.105
Most Extreme Differences	Positive	.156	.105
	Negative	-.156	-.056
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.523
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.947

a. Test distribution is Normal.

c. Calculated from data.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

PERIMETRIUM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.626	4	20	.207

Keterangan : Sig $0.207 > 0,05 =$ Variansi data homogen

c. Uji One Way ANOVA

ANOVA

PERIMETRIUM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	541.663	4	135.416	1.243	.325
Within Groups	2178.068	20	108.903		
Total	2719.731	24			

Keterangan : signifikan $0,325 > 0,05 = H_1$ ditolak, H_1 diterima, maka tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian perlakuan nanopartikel terhadap tebal endometrium

Lampiran 5. Data Hasil Analisis Statistik Jumlah Kelenjar Endometrium

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PERLAKUAN	ULANGAN	KELENJAR
N		25	25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0000	3.0000	11.1000
	Std. Deviation	1.44338	1.44338	2.31278
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.156	.098
	Positive	.156	.156	.098
	Negative	-.156	-.156	-.086
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.779	.490
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.579	.970

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KELENJAR

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.168	4	20	.355

Keterangan : Sig $0.355 > 0,05 =$ Variansi data homogen

c. One way ANOVA

ANOVA

KELENJAR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	52.475	4	13.119	3.457	.027
Within Groups	75.900	20	3.795		
Total	128.375	24			

Keterangan : signifikan $0.027 < 0,05 = H_1$ diterima, H_0 ditolak, maka terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian perlakuan nanopartikel terhadap jumlah kelenjar endometrium

KELENJAR

Duncan^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KONTROL	5	9.2500	
NANO50	5	10.4000	
JAMU	5	10.9000	
KLOMIFENSITRAT	5	11.3000	11.3000
NANO25	5		13.6500
Sig.		.142	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 6. Perhitungan Dosis

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

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

ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dosis rendah diharapkan mampu mempengaruhi parameter.

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

a. Perhitungan Dosis 25 mg/kgBB

Dosis Acuan: 25 mg/kgBB

Berat Badan Mencit 20 gr

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

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

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

b. Perhitungan Dosis 50 mg/kgBB

Dosis Acuan: 50 mg/kgBB

Berat Badan Mencit 20 gr

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

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

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

2. Dosis Perlakuan Pemberian Jamu Subur Kandungan

Penentuan dosis jamu subur kandungan ini mengacu pada penelitian sebelumnya Muhctaromah dkk (2017) yaitu 75 mg/kgBB. Dosis jamu subur kandungan perkapsul yaitu 500 mg/kgBB yang diminum 8 kapsul/hari (2 x

sehari @4 kapsul) dan dihitung menggunakan faktor konversi 0,018 (Laurence, 1964), sehingga diperoleh perhitungan sebagai berikut:

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

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

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

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

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:

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

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

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

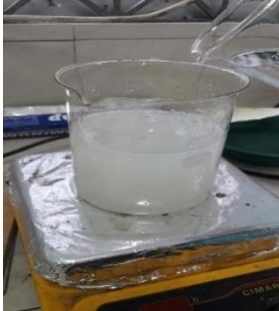
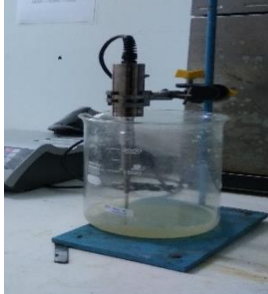
Lampiran 7. Dokumentasi Peneliti

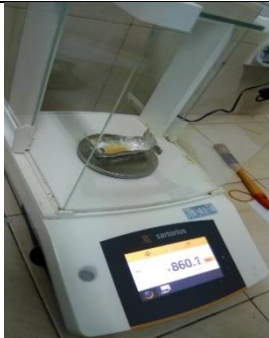
7.1 Tahap ekstraksi

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

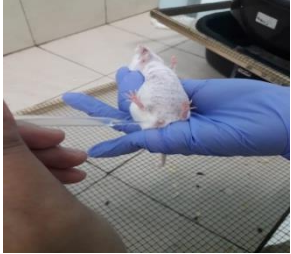
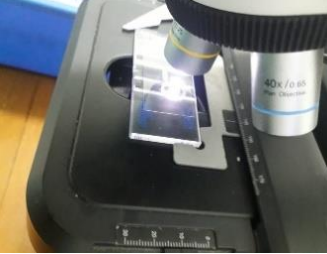
7.2 Pembuatan Nanopartikel

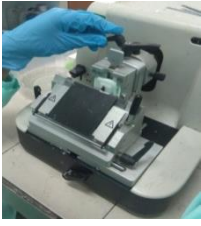
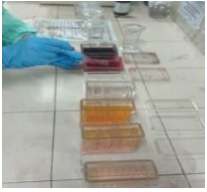
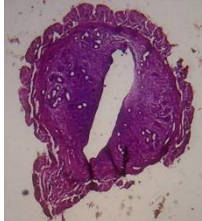
		
Penimbangan ekstrak	Penimbangan kitosan	Penimbangan STTP

		
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</i> 15 ml
		
Sentrifugasi	Pemisahan pellet dengan supernatan	Hasil pellet nanopartikel
		
Hasil pengeringan pellet	Penumbukan pellet	Penyaringan serbuk nanopartikel menggunakan ayakan 30 mesh

 Penimbangan serbuk nanopartikel	 Hasil serbuk nanopartikel	 Penyimpanan dalam freezer
--	--	--

7.3 Proses Perlakuan dan Pengujian Sampel

 Aklimatisasi dan pemeliharaan mencit	 Penimbangan berat badan mencit	 Sinkronisasi menggunakan PMSG HCG
 Induksi PMSG HCG	 Pemberian perlakuan melalui sonde oral	 Proses apus vagina mencit
 Fiksasi preparat apusan vagina dengan methanol 10%	 Pewarnaan preparat apusan vagina dengan Giemsa	 Pengamatan apus vagina

		
Dislokasi mencit	Pembedahan mencit dan pengambilan organ uterus	Fiksasi organ
		
Tahap embbeding	Tahap pemotongan	Tahap pewarnaan
		
Hasil pembuatan preparat histologi uterus		



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Mohamad Nurus Sholikhin
 NIM : 16620024
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil TA 2020/2021
 Pembimbing : Prof.Dr.drh.Hj Bayyinatul Muchtaromah. M.Si
 Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga* Dan *Acorus calamus* Terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Dan Ketebalan Uterus Mencit (*Mus musculus*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	24 -Mei- 2020	Konsultasi Judul	
2.	12 - Juni- 2020	Revisi Judul & Konsultasi BAB I	
3.	25- Juni-2020	Revisi BAB I, Konsultasi BAB II & BAB III	
4.	15 Juli 2020	Revisi BAB I, BAB II, & BAB III	
5.	29 Juli 2020	Revisi BAB I, BAB II, & BAB III	
6.	3 September 2020	Revisi BAB III	
7	5 Juli 2021	Konsultasi BAB IV dan 5	
8	20 Juli 2021	Revisi BAB 4 dan 5	
9	21 Agustus 2021	ACC BAB 4-5	

Pembimbing Skripsi,

Prof.Dr.drh.Hj Bayyinatul M. M.Si
 NIP. 19620901 199803 2 001



Malang, 6 Oktober 2021

Ketua Program Studi Biologi

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



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Mohamad Nurus Sholikhin
NIM : 16620024
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Mujahidin Ahmad M.Sc
Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga* Dan *Acorus calamus* Terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Dan Ketebalan Uterus Mencit (*Mus musculus*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	14 September 2020	Konsultasi Integrasi BAB 1, 2, 3	
2.	15 September 2020	Revisi Integrasi BAB 1,2,3	
3	20 September 2020	ACC BAB 1,2,3	
4	25 Agustus 2021	Konsultasi Integrasi BAB 4	
5	10 September 2021	Revisi Integrasi BAB 4	
6	14 September 2021	ACC BAB 1-5	

Pembimbing Skripsi,

Mujahidin Ahmad M.Sc
NIP. 197410182003122002



Malang, 6 Oktober 2021
Ketua Program Studi,

Denyika Sandi Savitri, M.P.
NIP.19860512201903100