

**PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN
Acorus calamus TERHADAP LAMA SETIAP FASE SELAMA SIKLUS
ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CISPLATIN**

SKRIPSI

**Oleh:
INDY RIZKA TSANIA
NIM. 19620096**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN
Acorus calamus TERHADAP LAMA SETIAP FASE SELAMA SIKLUS
ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CISPLATIN**

SKRIPSI

**Oleh:
INDY RIZKA TSANIA
NIM. 19620096**

**diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus calamus* TERHADAP LAMA SETIAP FASE SELAMA SIKLUS ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CISPLATIN

SKRIPSI

Oleh:
INDY RIZKA TSANIA
NIM. 19620096

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 6 Desember 2023

Pembimbing I



Prof. Dr. drh. Bayvinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 197109192 00032 0 0001

Pembimbing II



Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag
NIP. 19720420 200212 1 003



Mengetahui,
Kepala Program Studi

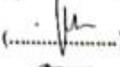
Dr. Evy Endi Savitri, M.P
NIP. 197109192 00032 0 0001

PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN
Acorus calamus TERHADAP LAMA SETIAP FASE SELAMA SIKLUS
ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CISPLATIN

SKRIPSI

Oleh:
INDY RIZKA TSANIA
NIM. 19620096

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 27 Desember 2023

Ketua Penguji	: Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si NIP. 19671113 199402 2 001	()
Anggota Penguji 1	: Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc NIP. 19880621 202012 2 003	()
Anggota Penguji 2	: Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si NIP. 19710919 2000 03 2 001	()
Anggota Penguji 3	: Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag NIP. 19720420 200212 1 003	()



HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua pihak yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi, khususnya :

1. Ayah dan Ibu tercinta, Bapak Saiful dan Ibu Musfiroh, yang telah merawat, mendidik, serta selalu memberikan fasilitas pendukung studi sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
2. Ibu Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga serta berbagi ilmu untuk memberikan bimbingan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
3. Ibu Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Ibu Maharani Retna Duhita, Ph.D selaku dosen penguji skripsi yang telah bersedia mengevaluasi dan memberikan saran-saran membangun kepada penulis terkait penelitian dan penulisan skripsi.
4. Navel, Alifia, Alya, Della, Tiara, Edo, dan Yaya sebagai teman-teman nanopartikel seperjuangan yang telah memberikan motivasi dan semangat selama perjalanan menyelesaikan studi
5. Deni, Zahro, Navel, Alifia dan Rosyid sebagai sahabat yang senantiasa memotivasi, membantu, menghibur dan tempat curhat selama perjalanan menyelesaikan studi
6. Teman-teman Biologi B 2019 dan ELITE 2019 yang sudah menemani dan mewarnai masa studi dengan penuh kenangan berharga.

Malang, 06 Desember 2023

Indy Rizka Tsania

MOTTO

**“Enjoy Your Life to The Fullest, When Hard Times Comes Just Follow The
Flow Cause God Always Guide”**

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Indy Rizka Tsania

NIM : 19620096

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* TERHADAP LAMA SETIAP FASE SELAMA SIKLUS ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CISPLATIN

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis murni merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, dan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan di daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini merupakan hasil jiplakan, maka saya siap menerima segala konsekuensi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Desember 2023
Yang membuat pernyataan,



Indy Rizka Tsania
Nim. 19620096

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus calamus* TERHADAP LAMA SETIAP FASE SELAMA SIKLUS ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CISPLATIN

Indy Rizka Tsania, Bayyinatul Muchtaromah, Munirul Abidin

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

ABSTRAK

Siklus estrus merupakan suatu fase reproduksi yang terjadi pada hewan betina non primata secara berulang dan ditandai dengan adanya perubahan fisiologi serta tingkah laku. Ketidakteraturan siklus estrus dapat mengindikasikan adanya permasalahan yang terkait dengan sistem reproduksi seperti kanker rahim, kanker payudara dan infertilitas. Obat herbal yang dipercaya dan sering digunakan untuk meningkatkan kesuburan oleh masyarakat Madura di Indonesia adalah “Jamu Subur Kandungan”. Jamu subur kandungan ini terdiri atas kombinasi dari 3 bahan, yaitu bawang putih (*Allium sativum*), akar temu mangga (*Curcuma mangga*), dan akar jeringau (*Acorus calamus*). Kendala yang dihadapi dalam mengkonsumsi obat herbal adalah kelarutan dan penyerapan yang kurang baik di saluran pencernaan. Oleh karena itu, salah satu upaya untuk mengatasi kendala ini yaitu dengan pendekatan nanoteknologi dan metode enkapsulasi. Jenis penelitian ini adalah eksperimental menggunakan RAL dengan 6 kali ulangan. Hewan coba yang digunakan menggunakan mencit (*Mus musculus*) betina sebanyak 30 ekor yang terdiri dari 5 perlakuan yaitu K- (aquades), K+ (cis + nano 0 mg/kgBB), P1 (cis + nano 25 mg/kgBB), P2 (cis + nano 50 mg/kgBB), dan P3 (cis + jamu 75 mg/kgBB). Data dianalisa menggunakan *one-way anova* ($\alpha=5\%$) dan dilakukan uji lanjut menggunakan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh nanopartikel terhadap lama fase selama siklus estrus dengan dosis optimal 50 mg/kgBB.

Kata Kunci: *Acorus calamus*, *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, fase-fase siklus estrus, nanopartikel,

**THE EFFECT OF *Allium sativum*, *Curcuma mango*, And *Acorus calamus*
NANOPARTICLES ON PHASE DURATION DURING THE ESTROUS
CYCLE OF CISPLATIN-INDUCED MICE (*Mus musculus*)**

Indy Rizka Tsania, Bayyinatul Muchtaromah, Munirul Abidin

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

ABSTRAK

The estrous cycle is a reproductive phase that occurs repeatedly in non-primate female animals and is characterized by changes in physiology and behavior. Irregularities in the estrus cycle can indicate problems related to the reproductive system, such as uterine cancer, breast cancer, and infertility. The herbal medicine trusted and frequently used by the Madurese people in Indonesia to increase fertility is "Jamu Subur Kandungan". This fertile herbal medicine consists of a combination of three ingredients: garlic (*Allium sativum*), mango root (*Curcuma mango*), and jeringau root (*Acorus calamus*). One of the obstacles faced in consuming herbal medicines is poor solubility and absorption in the digestive tract. Therefore, one effort to overcome this obstacle is through a nanotechnology approach and encapsulation methods. This research is experimental type, using a completely randomized design (RAL) with six repetitions. The experimental animals used were 30 female mice (*Mus musculus*), divided into five treatments: K- (distilled water), K+ (cis + nano 0 mg/kgBW), P1 (cis + nano 25 mg/kgBW), P2 (cis + nano 50 mg/kgBB), and P3 (cis + herbal medicine 75 mg/kgBB). Data were analyzed using one-way ANOVA ($\alpha=5\%$), and further tests were carried out using DMRT. The results showed that nanoparticles had an effect on the duration of the phase during the estrous cycle, with an optimal dose of 50 mg/kgBW.

Kata Kunci: *Acorus calamus*, *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, Estrous Cycle phases, nanoparticles,

تأثير الجسيمات النانوية *Allium sativum* و *Curcuma mango* و *Acorus calamus* على طول المرحلة أثناء دورة شبق الفئران (*Mus musculus*) المستحثة بالسيبيلاتين.

إندي رزك ثانية، بيّنة المحترمة، منير العابدين

برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

الملخص

الدورة الوداقية هي مرحلة إنجابية تحدث بشكل متكرر في إناث الحيوانات غير الرئيسيات وتتميز بتغيرات في وظائف الأعضاء والسلوك. يمكن أن يشير عدم انتظام دورة الشبق إلى مشاكل تتعلق بالجهاز التناسلي مثل سرطان الرحم وسرطان الثدي والعمق. إن الطب العشبي الموثوق به والذي يستخدم غالبًا لزيادة الخصوبة من قبل شعب مادوريس في إندونيسيا هو "Jamu Subur Kandungan". تكون هذا الدواء العشبي الخصب من مزيج من 3 مكونات، وهي الثوم (*Allium sativum*)، وجذر المانجو (*Curcuma mango*)، وجذر الودج (*Acorus calamus*) العوائق التي تواجه تناول الأدوية العشبية هي ضعف قابلية الذوبان والامتصاص في الجهاز الهضمي. ولذلك، فإن أحد الجهود للتغلب على هذه العقبة هو اتباع نهج تكنولوجيا النانو وطرق التغليف. هذا النوع من البحث تجريبي باستخدام RAL مع 6 تكرارات. كانت حيوانات التجارب المستخدمة عبارة عن 30 فأرًا أنثى (*Mus musculus*) تتكون من 5 علاجات، وهي K- (الماء المقطر)، K+ (رابطة الدول المستقلة + نانو 0 ملجم/كجم وزن الجسم)، P1 (رابطة الدول المستقلة + نانو 25 ملجم/كجم وزن الجسم)، P2 (رابطة الدول المستقلة + نانو 50 ملجم/كجم بي بي)، و P3 (رابطة الدول المستقلة + الأدوية العشبية 75 ملجم/كجم بي بي). تم تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين أحادي الاتجاه ($\alpha = 5\%$) وتم إجراء المزيد من الاختبارات باستخدام DMRT. أظهرت النتائج وجود تأثير للجسيمات النانوية على طول الطور خلال الدورة الشبقية بالجرعة المثلثي 50 ملغم/كجم من وزن الجسم.

الكلمات المفتاحية: مراحل دورة وداقية، *Acorus calamus*، *Allium sativum*، *Curcuma mango*، جسيم نانوي

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrihmaanirrohiim, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* Terhadap Lama Setiap Fase Selama Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Cisplatin”. Tidak lupa shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman.

Amiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag, selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Ibu Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Ibu Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc selaku dosen penguji skripsi yang telah bersedia mengevaluasi dan memberikan saran-saran membangun kepada penulis terkait penelitian dan penulisan skripsi
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	1
HALAMAN PERSETUJUAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
الملخص	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Hipotesis	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
1.6 Batasan Masalah	7
BAB II TINJUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Fungsi Tumbuhan Sebagai Obat dalam Perspektif Islam.....	9
2.2 Jamu Subur Kandungan.....	10
2.3 <i>Allium sativum</i>	11
2.3.1 Klasifikasi	11
2.3.2 Deskripsi tanaman.....	11
2.3.3 Kandungan	12
2.4 <i>Curcuma mangga</i>	14
2.4.1 Klasifikasi	14

2.4.2	Deskripsi tanaman.....	14
2.4.3	Kandungan	15
2.5	<i>Acorus calamus</i>	16
2.5.1	Klasifikasi	16
2.5.2	Deskripsi tanaman.....	16
2.5.3	Kandungan	17
2.6	Ekstraksi dengan Metode Maserasi	18
2.7	Nanopartikel	19
2.7.1	Metode Pembuatan Nanopartikel.....	20
2.8	Hewan Coba Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	24
2.9	Cisplatin.....	26
2.10	Anatomi dan Histologi Vagina	28
2.11	Siklus Estrus	32
2.11.1	Fase proestrus.....	33
2.11.2	Fase estrus	34
2.11.3	Fase metestrus.....	35
2.11.4	Fase diestrus	35
2.11.5	Apusan vagina.....	36
2.12	Mekanisme Kerja Hormonal Terhadap Siklus Reproduksi	37
2.13	Infertilitas.....	40
	BAB III METODE PENELITIAN	41
3.1	Rancangan Penelitian	41
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	42
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	42
3.4	Variabel Penelitian	43
3.5	Alat dan Bahan	43
3.6	Kegiatan Penelitian.....	44
3.7	Analisis Data.....	50
	BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	51
4.1	Pengaruh Nanopartikel Ekstrak <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> , dan <i>Acorus calamus</i> Terhadap Lama Setiap Fase Selama Siklus Estrus Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Diinduksi Cisplatin.....	51
4.2	Kajian Al-Qur'an dan Hadits Terkait Hasil Penelitian.....	60
	BAB V PENUTUP	62
5.1	Kesimpulan.....	62

5.2 Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Panjang Siklus Estrus.....	33
4.1 Hasil uji lanjut pengaruh pemberian nanopartikel pada lama fase estrus dalam jam	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>)	12
2.2 Morfologi Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>).....	15
2.3 Morfologi Jeringau (<i>Acorus calamus</i>).....	17
2.4 Metode Pembuatan Top-down.....	21
2.5 Metode Pembuatan Bottom-up.....	22
2.6 Hewan Coba Mencit	26
2.7 Anatomi Saluran Reproduksi.....	29
2.8 Histologi Epitel Vagina	30
2.9 Morfologi Vagina Mencit pada Siklus Estrus	31
2.10 Gambaran Apusan Vagina pada Fase Proestrus	33
2.11 Gambaran Apusan Vagina pada Fase Estrus.....	34
2.12 Gambaran Apusan Vagina pada Fase Metestrus	34
2.13 Gambaran Apusan Vagina pada Fase Diestrus.....	35
2.14 Diagram skematik mekanisme umpan balik endokrin dari sumbu hipotalamus-hipofisis-ovarium-rahim yang mengatur siklus estrus.....	39
4.1 Grafik rata-rata dari pengaruh nanopartikel <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> , dan <i>Acorus calamus</i>	51

DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	Halaman
Lampiran 1. Alur Penelitian	64
Lampiran 2. Data Perlakuan dan Hasil Uji Statistik lama Fase Proestrus.....	65
Lampiran 3. Data Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Estrus	67
Lampiran 4. Data Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Metestrus	69
Lampiran 5. Data Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Diestrus.....	71
Lampiran 6. Data Rata-Rata Perlakuan Selama Siklus Estrus dalam Jam	73
Lampiran 7. Perhitungan Dosis	74
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian	76

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem reproduksi adalah salah satu proses fisiologi yang terjadi pada makhluk hidup untuk melanjutkan keturunan dan bertahan hidup (Muchtarmah dkk, 2018). Khusus pada wanita, sistem reproduksi merupakan rangkaian organ yang saling berhubungan untuk mendukung produksi hormon steroid, produksi oosit, penyaluran sel telur dan sperma serta perkembangan janin (Mancini & Pensabene, 2019). Organ reproduksi akan berfungsi pada saat mencapai pubertas yang ditandai dengan terjadinya siklus estrus (Simatauw dkk, 2019).

Siklus estrus merupakan suatu fase reproduksi yang terjadi pada hewan betina non primata secara berulang dan ditandai dengan adanya perubahan fisiologi serta tingkah laku (Sitasiwi & Mardiaty, 2016). Terdapat empat fase pada siklus estrus yaitu fase proestrus, estrus, metestrus, dan fase diestrus. Fase proestrus terdapat dominasi sel-sel epitel berinti yang berbentuk oval serta memiliki inti sel yang jelas berada di tengah. Fase estrus terdapat banyak sel kornifikasi (sel tanduk) yang muncul secara tunggal atau bertumpuk (berlapis-lapis). Fase metestrus terdapat sel epitel berinti, sel kornifikasi, dan leukosit yang secara kualitatif mendominasi hampir sama banyak. Fase diestrus terdapat leukosit dalam jumlah banyak dan terdapat sel epitel berinti dalam jumlah yang sedikit (Simatauw dkk, 2019).

Ketidakteraturan siklus estrus dapat mengindikasikan adanya permasalahan yang terkait dengan sistem reproduksi seperti kanker rahim, kanker payudara dan

infertilitas (Hartati & Desmariyenti, 2020; Sari dkk, 2021). Infertilitas dapat ditandai dengan lama masa estrus yang lebih singkat dari seharusnya (Bertolin & Murphy, 2014). Rata-rata lama waktu setiap fase di siklus estrus pada mencit normal adalah 11 jam untuk fase awal proestrus, 21,4 jam fase akhir proestrus, 20,7 jam fase estrus, 21,8 jam fase metestrus dan 21,8 jam fase diestrus dengan total waktu siklus estrus selama 4,3 hari (Bertolin & Murphy, 2014).

Siklus estrus yang tidak normal dapat menjadi tanda dari infertilitas karena siklus estrus terjadi akibat pengaruh kerja esterogen (Pramasari, 2017). Jika siklus estrus tidak normal, maka besar kemungkinan pergerakan hormon esterogen juga terganggu. Menurut penelitian Busman (2013) mengenai kontrasepsi konvensional menunjukkan bahwa siklus estrus mencit menjadi 6 menit hingga 3 jam lebih singkat dari siklus estrus normal. Hal ini disebabkan alat kontrasepsi bekerja dengan menambahkan hormon progesteron dalam tubuh sehingga terjadi penghambatan *Luteinizing Hormone* (LH), perkembangan folikel dan ovulasi. Sehingga tingkat fertilitas akan menurun (Pramasari, 2017).

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk menentukan fase siklus estrus, yaitu dengan mengamati sitologi vagina (Byers *et al.*, 2012), impedansi listrik dan analisis biokimia urin (Bertolin & Murphy, 2014). Salah satu metode pengamatan sitologi vagina adalah dengan membuat apusan vagina/ *vaginal smears/ vaginal swap* secara berkala (Sitasiwi & Mardiaty, 2016). Byers *et al.* (2012) melaporkan bahwa penggunaan metode apusan vagina ini jauh lebih cepat daripada impedansi listrik dan analisis biokimia. Selain itu, penggunaan metode ini tidak memiliki risiko induksi *pseudopregnancy* atau merusak epitel vagina.

Sistem reproduksi wanita dapat mengalami beberapa masalah meliputi gangguan siklus menstruasi (estrus), dysmenorrhea, keputihan, pendarahan saat menstruasi dan gangguan reproduksi lainnya yang dapat mengganggu kesuburan (Muchtaromah dkk, 2018). Infertilitas merupakan masalah yang dihadapi oleh pasangan suami istri yang telah menikah selama minimal satu tahun dan melakukan hubungan seksual teratur tanpa menggunakan kontrasepsi tetapi belum berhasil memperoleh kehamilan (Ningsi dkk, 2021).

World Health Organization (WHO) secara global memperkirakan adanya kasus infertil pada 8-10% pasangan, jika dari gambaran global populasi maka sekitar 50-80 juta pasangan (1 dari 7 pasangan) atau sekitar 2 juta pasangan infertil baru setiap tahun dan jumlah ini terus meningkat (Indarwati *et al.*, 2017). Di Indonesia, menurut Badan Pusat Statistik (BPS) pada tahun 2011 tercatat dari ±39,8 juta wanita usia subur terdapat 10-15% yang dinyatakan infertil dan angkanya terus meningkat setiap tahunnya (Ningsi dkk, 2021). Jumlah pasangan infertil pada tahun 2013 mencapai 15-25% dari seluruh pasangan yang ada (Indarwati *et al.*, 2017).

Infertilitas dapat disebabkan oleh pihak wanita, pria, maupun keduanya, akan tetapi dari jumlah pasangan infertil yang ada, sebagian besar penyebabnya berasal dari wanita. Kondisi yang menyebabkan infertilitas dari faktor wanita sebesar 65%, faktor pria 20%, kondisi lain-lain dan tidak diketahui 15% (Yuliarfani & Nina, 2022). Ada banyak faktor yang menyebabkan infertil pada pria dan wanita. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kesuburan wanita yaitu perubahan siklus menstruasi dan ovulasi, masalah hormonal, stress oksidatif dan kelainan bentuk organ reproduksi. Namun, sebanyak 25% kasus infertilitas belum diketahui penyebabnya (Muchtaromah *et al.*, 2020).

Infertilitas dapat diatasi dengan beberapa cara, antara lain penerapan pola hidup sehat, penggunaan *assisted reproductive technology* (ART) yang melibatkan prosedur fertilisasi *in vitro* dan kriopreservasi, penggunaan obat induksi ovulasi, terapi hormon, dan herbal. Beberapa tahun terakhir, herbal telah digunakan untuk mengobati infertilitas dan merupakan praktik inklusif berdasarkan teori, keyakinan dan pengalaman (Muchtarmah *et al.*, 2020a). Herbal masuk kedalam kelas pengobatan komplementer dan alternatif (CAM). Obat-obatan herbal telah digunakan selama ribuan tahun di negara berkembang dan lebih dari 80% penduduk bergantung pada penggunaannya untuk kebutuhan perawatan kesehatan (Sekhri *et al.*, 2013).

Penggunaan Cisplatin untuk membuat hewan model *infertile* pada penelitian ini berdasar pada Kulhan *et al.* (2019) bahwa penggunaan cisplatin dapat menginduksi insufisiensi ovarium dan infertilitas yang sifatnya *reversible*. Infertilitas terkait cisplatin ini disebabkan oleh efek toksik pada folikel primordial, karena folikel primordial tidak dapat beregenerasi sehingga terjadi kegagalan fungsi ovarium yang awal (*premature ovary failure/POF*) (Pradjatmo, 2015). Penggunaan tumbuhan sebagai bahan obat juga dianjurkan dalam Islam. Allah SWT telah menyebutkan dalam Al-Qur'an, yakni pada QS. As-Syu'ara [26]: 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Makna dari penggalan surat As-Syu'ara ayat 7 tersebut menurut tafsir An-Nuur, Maha Kuasa Allah dapat menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam bentuk dan rupanya. Dalam penciptaan tersebut ada tanda

besar dan pelajaran tinggi (Ash-Shiddieqy, 2000). Kata كَرِيمٌ pada ayat diatas memberikan makna segala sesuatu yang disifatinya baik, dan kata زَوْجٌ memiliki arti tumbuhan, maka kata zauj karim memiliki arti tanaman yang baik (Al-Mahalli & As-Assuyuti, 2000). Salah satu bentuk beriman atas kekuasaan Allah dalam menciptakan tumbuh-tumbuhan dengan cara menjadikannya sebagai obat dan pemelihara kesehatan. Maha besar Allah SWT yang telah menciptakan berbagai tumbuhan yang baik dan memiliki perbedaan manfaat antara tumbuhan satu dengan tumbuhan yang lain.

Sumber daya alam tumbuhan untuk obat herbal di Indonesia memiliki banyak ragam. Bagi masyarakat yang berasal dari beberapa area di Indonesia seperti Jawa dan Madura, obat tradisional lebih dikenal sebagai jamu. Salah satu obat herbal yang dipercaya dan sering digunakan untuk meningkatkan kesuburan oleh masyarakat Madura di Indonesia adalah “Jamu Subur Kandungan”. Jamu subur kandungan ini terdiri atas kombinasi dari 3 bahan, yaitu bawang putih (*Allium sativum*), akar temu mangga (*Curcuma mangga*), dan akar jeringau (*Acorus calamus*) (Muchtaromah *et al.*, 2020a). Campuran dari ketiganya memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan dapat digunakan sebagai antijamur serta antibakteri (Muchtaromah *et al.*, 2020b).

Kendala yang dihadapi dalam mengkonsumsi obat herbal adalah kelarutan dan penyerapan yang kurang baik di saluran pencernaan (Muchtaromah *et al.*, 2020b). Selain itu, obat herbal telah menunjukkan aktivitas yang baik dalam pengujian *in vitro* tetapi tidak dapat direproduksi dalam percobaan *in vivo* (Bonifácio *et al.*, 2013). Oleh karena itu, salah satu upaya untuk mengatasi kendala

ini yaitu dengan pendekatan nanoteknologi dan metode enkapsulasi (Muchtaromah *et al.*, 2020b).

Nanopartikel merupakan partikel berukuran 10-1000 nm yang memiliki banyak keunggulan (Ahdyani dkk, 2020). Pengembangan nanopartikel mempunyai kelebihan pada sistem penghantaran zat aktif, memberikan hasil bahwa partikel atau globul pada skala nanometer memiliki sifat fisik yang khas dibandingkan partikel pada ukuran yang lebih besar terutama dalam meningkatkan kualitas penghantaran senyawa aktif, meningkatkan kelarutan senyawa, mengurangi dosis pengobatan dan meningkatkan penyerapan (Fitri dkk, 2021).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah terdapat pengaruh nanopartikel *A. Sativum*, *C. Mangga* dan *A. Calamus* terhadap lama fase selama siklus estrus mencit.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh nanopartikel *A. Sativum*, *C. Mangga* dan *A. Calamus* terhadap lama fase selama siklus estrus mencit.

1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh nanopartikel *A. Sativum*, *C. Mangga* dan *A. Calamus* terhadap lama fase selama siklus estrus mencit.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah

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

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel tumbuhan yang dipakai mengacu pada komposisi bahan jamu subur kandungan “jokotole” yaitu 28% jeringau, 36% temu mangga dan 36% bawang putih yang didapatkan dari Balai Materi Media Batu.
2. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dilakukan dengan metode maserasi.
3. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina normal fertile galur Balb-C, umur 2-3 bulan, berat 20-25 gram.
4. Hewan coba diinduksi menggunakan cisplatin untuk membuat keadaan infertile.
5. Parameter yang diamati adalah fase-fase dalam siklus estrus

BAB II TINJUAN PUSTAKA

2.1 Fungsi Tumbuhan Sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Mempelajari dan mengamati fenomena makhluk hidup termasuk tumbuhan, sangat dianjurkan dalam islam. Satu diantaranya yaitu mempelajari pemanfaatan tumbuhan sebagai obat. Seperti yang telah diketahui Allah SWT menciptakan seluruh makhluk-Nya begitu indah dan tersistem. Semua yang diciptakan Allah mempunyai peran masing-masing. Seperti halnya makhluk Allah yang lain, tumbuhan juga merupakan satu diantara makhluk Allah yang diciptakan untuk menyeimbangkan sistem kehidupan alam semesta dilihat dari bagaimana peran tumbuhan itu sendiri

Sebagai seorang muslim wajib meyakinkan suatu bukti kekuasaan-Nya akan keanekaragaman tumbuhan yang telah Allah ciptakan di bumi, Allah SWT berfirman dalam QS. Al-An'am [6]: 99

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ
وَالزَّيْتُونِ وَالرُّمَّانِ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي
ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah, dan menjadi masak. Sungguh, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” QS. Al-An'am [6]: 99.

Menurut Al-Jazairi (2007) bahwa allah telah menurunkan air hujan dan menumbuhkan bermacam-macam jenis tumbuhan yang beraneka warna, rasa, bau

dan keistimewaannya. Firman Allah ini sebagai penyempurnaan dari ucapan Musa dan peringatan bagi penduduk Mekkah yang belum mengenal Allah beserta hak-haknya dalam tauhid, diturunkannya air hujan dan menumbuhkan beragam tumbuhan yang menjadi makanan bagi manusia dan hewan, sebagai tanda-tanda kekuasaan Allah.

Berdasarkan firman Allah tersebut, dapat diketahui bahwa Allah menciptakan bumi dengan tumbuhan-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan makhluk hidup untuk kelangsungan hidupnya. Salah satu manfaat tanaman yang banyak diketahui adalah sebagai obat, diantaranya adalah bawang putih, temu mangga, dan jeringau. Seperti halnya sabda Nabi Muhammad SAW dalam HR. Muslim berikut:

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عِيسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَخْبَرَنِي عَمْرُو وَهُوَ ابْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: "Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma'ruf dan Abu Ath Thahir serta Ahmad bin 'Isa mereka berkata; Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb; Telah mengabarkan kepadaku 'Amru, yaitu Ibnu al-Harits dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla." (HR Muslim).

Hadist di atas menunjukkan bahwa Allah maha adil yang menciptakan penyakit beserta obatnya, hal itu dapat diketahui manusia dengan adanya ilmu pengetahuan. Ilmu pengetahuanlah yang akan menuntun manusia dalam menemukan obat dari berbagai penyakit. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan maka tidak akan pernah tahu bahwa Allah telah menciptakan berbagai

macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Ada berbagai obat yang telah tersedia di alam dan seringkali disebut sebagai tanaman herbal.

2.2 Jamu Subur Kandungan

Jamu merupakan obat herbal tradisional yang banyak digunakan di Indonesia. Jamu yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk meningkatkan fertilitas wanita terutama didaerah Madura, Jawa Timur adalah “Jamu Subur Kandungan”. “Jamu Subur Kandungan” mengandung 15% bawang putih (*Allium sativum*), 15% rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*), 12% rimpang jeringau (*Acorus calamus*), dan bahan-bahan lain hingga menjadi 100%, jamu ini dikenal sebagai obat untuk meningkatkan kesuburan (Mughtaromah *et al*, 2020).

Penelitian Ahmad (2015) melaporkan bahwa komposisi “Jamu Subur Kandungan” memiliki kandungan aktivitas antioksidan golongan kuat yang dimungkinkan karena adanya kontribusi steroids, fenol, tannin, flavonoid, glikosida, diterpene, triterpene serta alkaloid pada *Allium sativum* dan *Acorus calamus*, juga adanya terpenoids sebagai senyawa utama pada *Curcuma mangga* sehingga “Jamu Subur Kandungan” ini memiliki potensi besar dalam meningkatkan fertilitas.

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ قَالَ: قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: "إِنَّ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءً مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ (صحیح البخاری

Artinya: “Dari Abu Hurairah, ia berkata: Rasulullah bersabda, "Sesungguhnya di dalam biji jintan hitam terdapat kesembuhan dari setiap penyakit, kecuali As-Sam (kematian)." (HR. Al-Bukhari).

Penggunaan rempah-rempah salah satunya jintan hitam dalam bidang kesehatan telah disebutkan dalam hadist riwayat imam bukhari. Hadist tersebut

menyebutkan bahwa didalam biji jintan hitam terdapat kesembuhan dari setiap penyakit kecuali kematian. Hal ini menunjukkan bahwa jintan hitam atau rempah-rempah memiliki manfaat yang besar dalam pengobatan penyakit

2.3 *Allium sativum*

2.3.1 Klasifikasi

Klasifikasi bawang putih (*Allium sativum*) menurut Muslikah (2022), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Asparagales
Family	: Alliaceae
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Allium sativum</i> L.

2.3.2 Deskripsi tanaman

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis. Batang yang terlihat di atas permukaan tanah adalah batang semu, sedangkan untuk batang sebenarnya berada di dalam tanah. Batang semu dari bawang putih terdiri dari pelepah-pelepah daun (Amrulloh dkk, 2019).

Bawang putih tumbuh secara berumpun dan tingginya bisa mencapai 30-75 cm. Helaian daun (*lamina*) pada bawang putih berbentuk pipih dan memanjang. Akarnya berupa serabut-serabut kecil (*pilus radices*). Setiap daunnya terdiri dari

sejumlah anak bawang (siung) di mana setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih (Simangunsong dkk, 2022).

Umumnya bawang putih tumbuh di dataran tinggi, namun varietas tertentu dapat tumbuh di dataran rendah. Media tumbuh yang baik untuk tanaman bawang putih adalah tanah bertekstur lempung berpasir atau lempung berdebu dengan pH netral (Amrulloh dkk, 2019). Daerah penyebaran bawang putih di Indonesia yaitu meliputi wilayah Sumatera Utara, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Lombok dan Nusa Tenggara Timur (Simangunsong dkk, 2022).



Gambar 2.1 Morfologi bawang putih (a) Morfologi siung bawang putih (b) Morfologi tanaman bawang putih (Stavěliková, 2008).

2.3.3 Kandungan

Ciri utama dari bawang putih adalah rasa siung bawangnya yang berbeda, sebagai hasil dari reaksi biokimia yang kompleks. Senyawa utama yang bertanggung jawab untuk rasa itu Sebagian besar mengandung sulfur, asam amino non-organik (thiosulfonates), di antaranya alliin atau S-allyl-cysteine sulfoxide (ACSO) yang merupakan precursor rasa bawang putih yang paling dominan.

Terlepas dari atribut rasanya, senyawa sulfur ini juga bertanggung jawab atas sikap obat bawang putih, seperti antikanker, antidiabetes, antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, kardioprotektif dan aktivitas immunoregulator.

Arekemase *et al* (2013) melaporkan bahwa bawang putih mempunyai potensi sebagai antibakteri, antivirus, antijamur dan antiprotozoal.

Selain itu, sulfur juga dapat meningkatkan biosintesis glutathione, yang diketahui memiliki fungsi antioksidan penting. Senyawa organik signifikan lainnya dengan sifat bioaktif yang kuat adalah ajoene, serta beberapa senyawa yang mengandung sulfur selain alliin, seperti allicin, 1,2-vinyldithiin, allixin dan S-allyl-cysteine, dan sulfida, seperti diallyl-, methyl allyl-, dan dipropyl mono-, di-, tri- dan tetra-sulfida, yang terbentuk setelah penguraian thiosulfinites.

Selain senyawa organiknya, bawang putih juga kaya akan vitamin (terutama vitamin B kompleks dan vitamin C), antioksidan, flavonoid, dan mineral (terutama P, K, dan Se), selain itu juga dianggap sebagai sumber yang kaya akan fitonutrient non-organik lainnya, dengan khasiat obat dan terapeutik yang penting, yang dititik beratkan pada flavonoid, saponin dan sapogenin, senyawa fenolik, nitrogen oksida, amida dan protein (Martins *et al*, 2016).

عَنْ أَبِي رَزِينٍ عَنْ جَابِرِ بْنِ عَبْدِ اللَّهِ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُمَا قَالَ: قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: "إِنَّ فِي الْبَصَلِ حَبَّتَيْنِ خَيْرَيْنِ مِنَ الدُّنْيَا النَّعِيمِ وَالشِّفَاءِ"
(مسند أحمد)

Artinya: *Dari Jaber bin Abdullah, dia berkata: Rasulullah SAW. bersabda, "Sesungguhnya dalam bawang ada dua hal terbaik di dunia ini, yaitu kenikmatan dan kesembuhan." (HR. Ahmad)*

Manfaat bawang dalam islam juga telah disebutkan dalam hadist riwayat ahmad yang menyatakan bahwa bawang memiliki dua hal terbaik di dunia ini, yaitu kenikmatan dan kesembuhan. Kesembuhan ini akan didapat ketika manusia mengkonsumsinya, baik sebagai makanan maupun obat.

2.4 *Curcuma mangga*

2.4.1 Klasifikasi

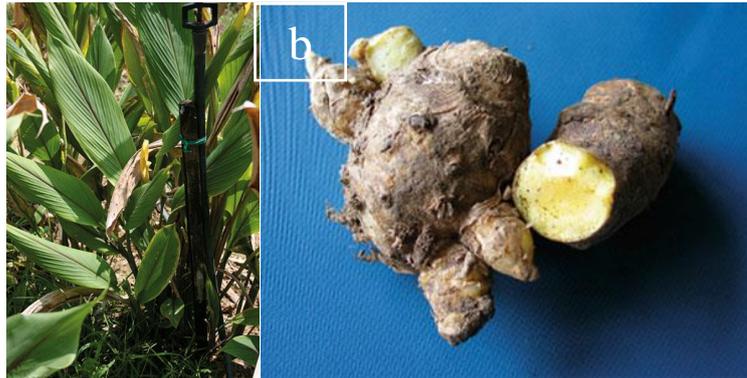
Klasifikasi temu mangga (*Curcuma mangga*) menurut Andriana (2021), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Species	: <i>Curcuma mangga</i> Val

2.4.2 Deskripsi tanaman

Tanaman temu mangga (*Curcuma mangga*) umumnya ditemukan tumbuh liar di ladang, hutan jati atau pinggir sungai. Temu mangga merupakan tanaman semak tahunan dengan tinggi yang bisa mencapai 50-75 cm. Umbi yang dihasilkan adalah umbi batang. Batang temu mangga berupa batang semu yang tersusun dari gabungan kelopak-kelopak daun (Andriana, 2021).

Daun temu mangga berwarna hijau dengan bentuk seperti mata lembing, bulat lonjong di bagian ujung dan pangkalnya. Daunnya penuh dengan bintik-bintik kecil berwarna putih. Panjang daun berkisar antara 30-45 cm dengan lebar daun 7,5-12,5 cm. Tangkai daun panjang, sama panjang dengan daunnya. Permukaan atas dan bawah daun licin serta tidak berbulu (Andriana, 2021).



Gambar 2.2 Morfologi temu mangga, a. Plant habit temu mangga, b. Akar temu mangga (Lim, 2016).

2.4.3 Kandungan

Penelitian Srirod & Tewtrakul (2019) melaporkan bahwa beberapa tanaman Zingiberaceae seperti *Curcuma longa* mengandung zat aktif terutama minyak atsiri dan curcuminoid. Curcuminoid merupakan diferuloylmethane yang mengandung curcumin, demethoxycurcumin dan bisdemethoxycurcumin yang memiliki sifat sebagai antioksidan, antiinflamasi dan aktivitas *anti-ulcer*.

Ekstrak *Curcuma mangga* sangat bermanfaat bagi kesehatan, sebagai antimikroba, antidiare, antiradang, antikanker, analgesic, dan antioksidan (Indis & Kurniawan, 2016). Hal ini dikarenakan ekstrak *C. mangga* mengandung beberapa senyawa aktif seperti curcuminoid dan fenolik. Senyawa curcuminoid nya adalah curcumin, bisdimetoksikurkumin, bismetoksikurkumin, dan senyawa foliknya adalah asam ferulic, asam p-coumaric, asam cinnamic, dan asam cafeic (Indis & Kurniawan, 2016).

Ekstrak air temu mangga dilaporkan dapat menekan radikal bebas (Mughtaromah, Wahyudi, *et al.*, 2020), menghambat pembentukan peroksida selama oksidasi lipid (Pujimulyani *et al.*, 2018), dan menghambat terjadinya alergi

(Malek *et al.*, 2011). Penelitian Abraham *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa akar dari temu mangga memiliki sifat antikanker dan antioksidan.

2.5 *Acorus calamus*

2.5.1 Klasifikasi

Klasifikasi jeringau (*Acorus calamus*) menurut Simangunsong dkk (2022), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Arales
Family	: Araceae
Genus	: <i>Acorus</i>
Species	: <i>Acorus calamus</i>

2.5.2 Deskripsi tanaman

Jeringau (*Acorus calamus*) termasuk ke dalam tanaman herba tahunan dengan tinggi yang bisa mencapai ± 75 cm, daun basah, pendek, membentuk rimpang, dan berwarna putih kotor. Daun jeringau termasuk daun tunggal berwarna hijau dengan bentuk lanset, ujung runcing, tepi rata, memiliki panjang sekitar ± 60 cm serta lebar ± 5 cm. Pangkal dari daun jeringau memeluk batang dengan pertulangan daun sejajar (Simangunsong dkk, 2022).

Bunga jeringau adalah bunga majemuk dengan bentuk bongkol dan ujung meruncing. Panjang bunga sekitar 20-25 cm, terletak di ketiak daun. Memiliki tangkai sari dengan panjang $\pm 2,75$ mm, kepala sari dengan panjang $\pm 0,5$ mm. Jeringau juga memiliki putik dengan ukuran 1-1,5 mm yang pada bagian kepalanya

berbentuk meruncing dengan panjang $\pm 0,5$ mm. Mahkota bunga pada jeringau berbentuk bulat panjang dan berwarna putih dengan panjang 1-1,5 mm. Buah pada jeringau memiliki warna coklat. Tanaman ini biasa ditemukan pada tempat yang lembab seperti di tepi danau serta sungai (Simangunsong dkk, 2022).



Gambar 2.3 Morfologi jeringau, a. *Plant habit* jeringau, b. Akar jeringau (Chandra & Prasad, 2017).

2.5.3 Kandungan

Acorus calamus pada jaman dulu digunakan oleh orang China kuno untuk mengurangi pembengkakan. Dalam praktek pengobatan Ayurveda India, akar jeringau telah digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti demam, asma dan bronchitis, serta sebagai obat penenang. Suku asli India menggunakan jeringau untuk mengobati batuk, yang dibuat rebusan sebagai karminatif dan sebagai infus kolik. Dalam pengobatan herbal Barat, ramuan akar jeringau ini digunakan untuk mengatasi masalah pencernaan seperti gas, kembung, kolik dan fungsi pencernaan yang buruk (Chandra & Prasad, 2017).

Rimpang jeringau dilaporkan memiliki manfaat sebagai penenang, antimikroba, antidiare, antidyslipidemic, neuroprotektif, antiinflamasi dan aktivitas analgesik. Ekstrak rimpang jeringau memiliki depresan SSP, penenang, serta dapat menghambat aktivitas motorik spontan (Asha & Kumar, 2015). Penelitian Asha & Kumar (2015) melaporkan bahwa pada skrining fitokimia awal dari ekstrak

jeringau mengungkapkan adanya terpenoid, steroid, flavonoid, tannin, saponin dan senyawa fenolik,

Berdasarkan penelitian Imam *et al.*, (2013) melaporkan bahwa studi fitokimia jeringau mengandung glikosida, flavonoid, saponin, tannin, senyawa polifenol, *mucilage*, minyak atsiri dan *bitter principle*. Jeringau telah dilaporkan mengandung glukosida, alkaloid dan minyak atsiri yang mengandung calamen, clamenol, calameon, asarone dan sesquiterpenes. Jeringau ini juga mengandung glikosida pahit Bernama acorine bersama dengan eugenol, pinene dan camphene. Jeringau dengan senyawa fitokimianya mempunyai potensi sebagai anti inflamasi (Abu Bakar *et al.*, 2018).

2.6 Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu zat berdasarkan pada perbedaan kelarutan dua cairan yang tidak saling larut dan berbeda, biasanya air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam ekstraksi, salah satu yang paling umum dilakukan adalah metode maserasi. Ekstraksi merupakan salah satu metoda pemisahan zat terlarut dengan pelarutnya berdasarkan titik didih pelarut.

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar. Namun, ada juga keterbatasan utama dari metode maserasi ini, yaitu dapat memakan banyak waktu, menggunakan pelarut yang cukup banyak, dan memungkinkan beberapa senyawa dapat hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja akan sulit diekstraksi pada

suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat juga menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang bersifat termolabil (Tetti, 2014).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simpilisia yang digunakan dihaluskan berupa serbuk kasar, dilarutkan dengan bahan pengestraksi, biasanya berupa etanol. Proses ekstraksi lainnya dilakukan dengan cara pemanasan, refluks yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik. Ekstraksi dapat berlangsung dengan efisien dan senyawa dalam sampel secara lebih efektif dapat ditarik oleh pelarut.

2.7 Nanopartikel

Nanopartikel umumnya didefinisikan sebagai partikel materi yang berukuran 1 hingga 100 nm (Patil *et al.*, 2021). Namun pada beberapa sumber, batasan ukuran 100 nm ini sulit dicapai dalam sistem nanopartikel yang akan digunakan sebagai sistem penghantaran obat. Nanopartikel obat secara umum harus terkandung obat dengan jumlah yang cukup di dalam matriks pada tiap butir partikel, sehingga memerlukan ukuran yang relatif lebih besar dibanding nanopartikel non-farmasetik. Meskipun demikian, secara umum tetap disepakati bahwa nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran di bawah 1 mikron (Martien dkk., 2012).

Tujuan dari nanopartikel yaitu untuk mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, memodifikasi sistem penghantaran obat sehingga obat dapat langsung menuju daerah yang spesifik, meningkatkan stabilitas zat aktif dari degradasi lingkungan (penguraian enzimatis, oksidasi, hidrolisis), memperbaiki absorbs suatu senyawa makromolekul dan

mengurangi efek iritasi zat aktif pada saluran cerna (Abdassah, 2009). Tujuan lain dari penggunaan nanopartikel yaitu sebagai detector, katalis, zat pelapis permukaan, serta antibakteri (Hutauruk & Wulan, 2017).

Nanopartikel memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang dapat ditembus oleh partikel koloidal. Selain itu, nanopartikel fleksibel untuk dikombinasikan dengan berbagai teknologi lain. Kemampuan ini membuka potensi luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain dari nanopartikel adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Abdassah, 2009).

فَمَنْ يَعْمَلْ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ خَيْرًا يَرَهُ ۗ

Artinya: “Siapa yang mengerjakan kebaikan seberat dzarrah, dia akan melihat (balasan)-nya.” (Q.S Al-Zalzalah [30]: 7)

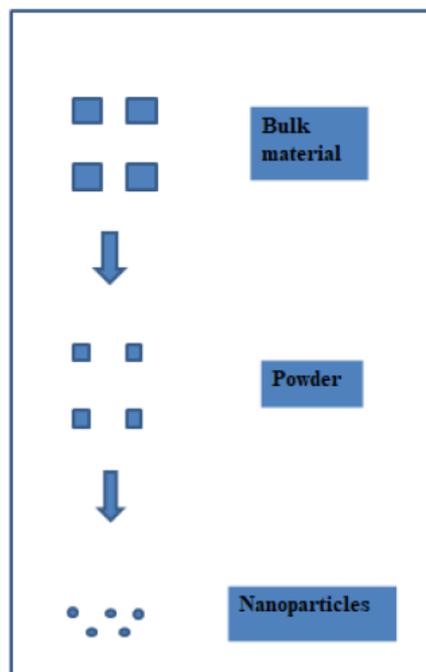
Kata ذَرَّةٍ dalam ayat tersebut memiliki makna sesuatu yang berukuran kecil, yang mana dapat diketahui bahwa sesuatu yang kecil juga memiliki efek yang baik. Seperti pada penggunaan teknologi nanopartikel yang mengubah ukuran suatu partikel menjadi sangat kecil sehingga dapat berpengaruh secara optimal.

2.7.1 Metode Pembuatan Nanopartikel

Sintesis nanopartikel terbagi ke dalam dua klasifikasi besar, yaitu secara top-down dan bottom-up

a. Top down

Pembuatan secara top-down dimulai dengan partikel berukuran besar yang dipecah menjadi partikel berukuran nano setelah dilakukan perlakuan yang sesuai. Kekurangan dari metode pembuatan ini yaitu adanya keterlibatan instalasi besar serta modal yang banyak dalam persiapannya. Metode ini juga cukup mahal dan tidak cocok untuk produksi skala besar. Namun, metode ini cocok digunakan untuk eksperimen laboratorium. Metode pembuatan ini didasarkan pada pemecahan bahan. Metode ini tidak sesuai untuk sampel yang bersifat lunak (Patil *et al*, 2021). Representasi dari metode ini ditunjukkan dalam gambar 4.

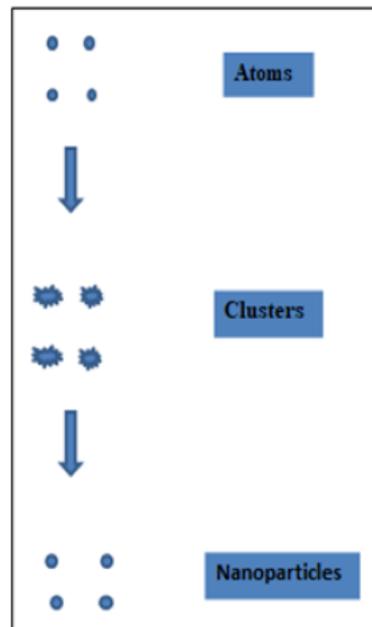


Gambar 2.4 Metode Pembuatan Top-down (Patil *et al*, 2021)

b. Bottom up

Proses pembuatan bottom-up berupa pembentukan nanostruktur atom demi atom atau molekul demi molekul. Pada pendekatan bottom-up, obat dilarutkan dalam pelarut organik dan kemudian diendapkan pada penambahan antisolvent dalam adanya stabilizer (Abdassah, 2009). Banyak dari teknik ini masih dalam proses pengembangan atau baru mulai digunakan untuk produksi nanopartikel

secara komersial (Patil *et al*, 2021). Representasi metode ini ditunjukkan dalam gambar 2.



Gambar 2.5 Metode Pembuatan Bottom-up (Patil *et al*, 2021).

Selain itu, terdapat pula dua metode dengan pembuatan nanopartikel sistem polimer yang umum digunakan, yaitu metode polimerasi monomer sintesis dan dispersi polimer (Abdassah, 2009).

1. Polimerasi Monomer Sintesis

Nanopartikel didapatkan dengan cara menginduksi reaksi polimerisasi dari monomer agar terbentuk polimer sebagai suatu pembawa. Langkah-langkah pembuatannya yaitu dimulai dengan mendispersikan suatu monomer yang tidak larut air ke dalam fase pendispersi air, lalu diinduksi serta diberi pengendali reaksi berupa inisiator kimia, stabilizer dan variasi pH (Abdassah, 2009).

2. Dispersi Polimer

Pembuatan nanopartikel dispersi polimer memiliki prinsip presipitasi. Dispersi polimer dibuat dengan pembentukan emulsi dari fase organik yang terlarut polimer di dalamnya dengan fase air, kemudian untuk membentuk partikel maka fase organik harus dihilangkan (Abdassah, 2009). Terdapat beberapa jenis metode dispersi polimer:

a. Metode penguapan pelarut

Polimer dilarutkan dalam pelarut organik seperti etil asetat yang digunakan sebagai pelarut dalam melarutkan obat yang bersifat hidrofob. Campuran polimer dan larutan obat lalu diemulsifikasi dalam larutan yang mengandung surfaktan dan menjadi bentuk emulsi minyak dalam air (o/w). Setelah terbentuk emulsi yang stabil, pelarut organik kemudian diuapkan dengan ditekan atau diputar secara terus menerus menggunakan pengaduk magnetik. Ukuran partikel dipengaruhi oleh tipe dan konsentrasi penstabil yang digunakan, kecepatan homogenizer, dan konsentrasi polimer (Abdassah, 2009).

b. Emulsifikasi spontan

Emulsifikasi spontan adalah metode modifikasi dari penguapan pelarut. Dalam metode ini pelarut yang larut dalam air bersama dengan sejumlah kecil pelarut organik yang tidak larut air, digunakan sebagai fase minyak. Karena difusi spontan dari pelarut menyebabkan turbulensi antarmuka antara dua fase yang membentuk partikel kecil. Semakin banyak konsentrasi air yang larut dalam pelarut, ukuran dari partikel yang dihasilkan akan semakin kecil (Abdassah, 2009).

c. Gelasi ionik

Metode gelasi ionik melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Gelasi ionik diikuti dengan

kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Pembentukan ikatan sambung silang ini akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk. Kitosan yang merupakan polimer kationik dapat bereaksi dengan anion multivalen seperti tripolifosfat. Pembentukan mikropartikel dengan metode gelasi ionik dapat dilakukan dengan pengerasan tetesan cair yang didispersikan pada fase minyak atau organik. Prosedur meliputi pencampuran dua fase cair, fase yang satu mengandung kitosan dan fase yang satu mengandung anion multivalen (Abdassah, 2009).

d. Spray drying

Polimer dilarutkan dalam pelarut organik, obat didispersikan ke dalamnya, kemudian dimasukkan ke dalam alat spray dry. Sampel menjalani proses penyemprotan melalui aliran udara panas tersebut, pelarut akan menguap sehingga menyisakan partikel padat berukuran nanometer (Abdassah, 2009).

2.8 Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*)

Mencit termasuk dalam genus *Mus*, sub famili murinae, famili muridae, order rodentia. Mencit yang sudah dipelihara di laboratorium sebenarnya masih satu famili dengan mencit liar. Sedangkan mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Hewan ini memiliki karakter lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. Diantara spesies-spesies hewan lainnya, mencit yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004).

Allah SWT menciptakan hewan berbagai macam bentuknya dengan tujuan untuk kemaslahatan manusia. Salah satunya yaitu mencit yang Allah ciptakan berjalan menggunakan 4 kaki, sebagaimana dalam QS.An-Nuur [18] : 45

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

Artinya: “Dan Allah Telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu” (QS. an-Nuur [18] :45).

Makna dari penggalan surat tersebut menurut tafsir An- Nur adalah Allah SWT telah menjadikan segala binatang yang melata di muka bumi, diantaranya ada yang bergerak dengan perut, ada yang berjalan menggunakan kaki seperti burung dan manusia. Dan ada pula yang berjalan menggunakan empat kaki seperti singa, unta, dan sebagainya. Allah menjadikan apa yang dikehendaki dan Allah berkuasa atas segala sesuatu (Ash-Shiddieqy, 2000).

Lafadz فَدِيرٌ diatas menggambarkan tentang ketetapan dari keanekaragaman cara hewan berjalan. Ada yang berjalan dengan perutnya, ada yang berjalan dengan kaki. Dan diantara hewan yang berjalan diatas kakinya tersebut, ada yang berkaki dua seperti burung dan manusia, ada pula yang berkaki empat. Dari perbedaan yang dimiliki setiap hewan ada beberapa kesamaan dari segi biologis dimana struktur organ reproduksi mencit menyerupai manusia, sehingga mencit dapat digunakan sebagai model hewan eksperimental (Shihab, 2002).

Mencit dipilih menjadi objek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun mencit mempunyai struktur fisik dan anatomi yang jelas berbeda dengan manusia, tetapi mencit adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia terutama dalam aspek metabolisme glukosa melalui perantaraan hormon insulin. Disamping itu, mempunyai jarak gestasi yang pendek untuk berkembang biak (Syahrin, 2006).



Gambar 2.6 Hewan Coba Mencit (Kusumawati, 2004).

2.9 Cisplatin

Kondisi infertil yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan induksi cisplatin, kandungan cisplatin merupakan molekul anorganik netral dengan berat molekul 301,1g/mol, kerapatan 3,74 g / cm³ dan titik lebur 270°C, dengan rumus molekul PtCl₂H₆N₂. Cisplatin merupakan kompleks logam berat yang mengandung atom pusat platinum yang dikelilingi oleh dua atom klorida dan dua molekul ammonia dalam posisi cis. Hal ini larut dalam air atau garam pada 1 mg/mL dan dimetil formamida pada 24 mg/mL (Bristol-Company, 2010).

Cisplatin telah dinyatakan sebagai agen perantara gonadotoksik. Selain itu, telah dibuktikan bahwa infertilitas terkait cisplatin disebabkan oleh efek toksik pada folikel primordial. Hal ini dikarenakan folikel primordial tidak dapat beregenerasi,

kerusakan yang disebabkan oleh paparan zat beracun dapat menyebabkan insufisiensi ovarium dan infertilitas (Altuner *et al.*, 2013).

Mekanisme kerja toksisitas cisplatin pada ovarium belum dijelaskan secara menyeluruh. Namun, diduga peningkatan produksi radikal oksigen bebas (*free oxygen radicals*) dan penurunan produksi antioksidan berdampak pada terjadinya toksisitas cisplatin. Telah diklaim bahwa kerusakan organ yang berhubungan dengan radikal bebas terjadi sebagai akibat dari mekanisme pertahanan antioksidan yang terganggu. Selain itu, dilaporkan bahwa toksisitas yang disebabkan oleh cisplatin pada jaringan berhubungan erat dengan peningkatan peroksidasi lipid (Altuner *et al.*, 2013).

Cisplatin biasanya diberikan secara intravena, dan darah mengangkut kompleks ke seluruh tubuh. Dalam aliran darah, cisplatin dipertahankan dalam keadaan netral dengan konsentrasi ion klorida yang relatif tinggi (≈ 100 mM). Cisplatin terikat kuat dengan protein plasma, seperti albumin dan transferin, yang menyebabkan inaktivasi sejumlah besar obat. Beberapa penelitian juga mengemukakan bahwa pengikatan cisplatin-albumin memiliki aktivitas antitumor. Difusi pasif melintasi membran plasma diduga sebagai proses pengangkutan obat ke dalam sel (Petrovic, 2016).

Banyak target potensial dalam sel yang reaktif dengan platinum. Cisplatin dapat mengikat fosfolipid, dan membentuk kompleks koordinasi dengan phosphatidylserine, yang berada pada membran sel. Cisplatin juga dapat mengikat DNA, RNA, protein, serta peptida dalam sitosol dan nukleus. Cisplatin berikatan dengan pusat reaktif atom nitrogen N7 pada adenin dan guanin yang membentuk ikatan silang sehingga menjadikan distorsi DNA (Petrovic, 2016), dan

menyebabkan kerusakan DNA pada sel kanker, mencegah pembelahan sel serta mengakibatkan kematian sel secara apoptosis (Dasari, 2014).

Efek samping dari terapi platinum pada cisplatin termasuk efek sitotoksik umum, seperti mual dan muntah, penurunan produksi sel darah dan trombosit di sumsum tulang (myelosuppression) dan penurunan respons terhadap infeksi (penekanan kekebalan). Efek samping yang lebih spesifik termasuk kerusakan ginjal (nefrotoksisitas), kerusakan neuron (neurotoksisitas) dan gangguan pendengaran (Florea, 2011). Efek ini biasanya muncul hari ke-10 hingga ke-20, tetapi kerusakan ini bersifat reversible. Efek samping lain adalah ototoksisitas yang ditandai dengan ketidakmampuan mendengar suara dengan frekuensi tinggi. Efek pada gastrointestinal seperti muntah dan mual juga sering muncul, biasanya pada jam pertama setelah pemberian obat dan dapat berlangsung 24-48 jam, bahkan dalam beberapa kasus bisa terjadi tiga hingga lima hari (Barakat, 2009).

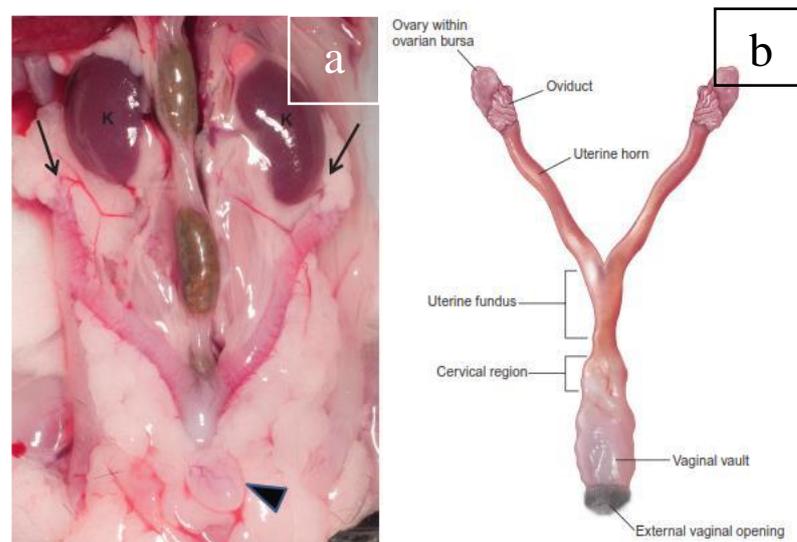
Paparan terhadap stres oksidatif dapat mengganggu fungsi biologis normal, seperti ROS yang dapat menyebabkan kematian sel. Pembentukan ROS bergantung pada konsentrasi obat yang diberikan dan durasi pemaparan. ROS mungkin bersifat karsinogenik, namun juga bermanfaat untuk mengobati kanker. Konsentrasi logam yang melebihi tingkat fisiologis bersifat toksik, yang mengarah pada pembentukan radikal bebas (Florea, 2011). Penelitian oleh Altuner (2013), menyatakan bahwa paparan stres oksidatif oleh efek samping cisplatin menyebabkan terjadinya toksisitas pada ovarium dan menimbulkan gangguan fertilitas.

2.10 Anatomi dan Histologi Vagina

Vagina merupakan bagian dari sistem reproduksi berupa saluran panjang dan berfungsi sebagai tempat penumpahan semen dari individu jantan, serta

pengeluaran lendir atau darah menstruasi. Vagina terbagi atas duabagian, yaitu bagian luar (vertibulum) dan bagian dalam dari muara uterus sampai serviks (vagina posterior). Dinding vagina tersusun atas mukosa, muskularis, dan serosa. Lapisan mukosa terdiri dari sel-sel epitel squamosal. Perubahan pada mukosa menunjukkan berbagai kondisi yang secara fungsional bergantung pada fase dari siklus birahi hewan tersebut. Betina dengan siklus reproduksi normal akan mengalami perubahan teratur pada sel epitel pembatas vagina. Perubahan tersebut disebabkan sekresi hormon oleh ovarium (Akbar, 2010).

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



Gambar 2.7 Anatomi Saluran Reproduksi (A) Saluran reproduksi tikus. (B) Saluran reproduksi tikus ex vivo (Rendi *et al.*, 2012).

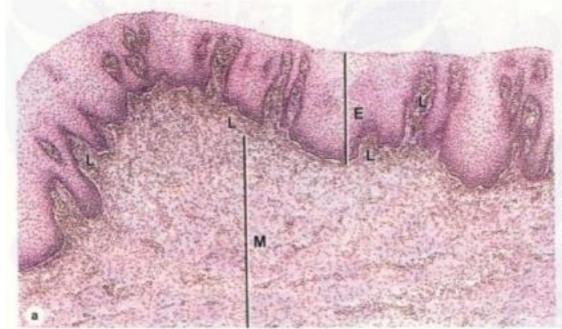
Ovarium berpasangan (panah) terletak di ujung ekor ginjal (K) yang tertanam dalam bantalan lemak ovarium uterus yang berpasangan bertemu di fundus. Perhatikan bahwa kandung kemih (panah) ada di permukaan ventral saluran

vagina. Pada gambar B menunjukkan ovarium berpasangan dan tuba falopi, rahim dupleks, kubah vagina, dan lubang vagina eksternal. Melanosis fundus uteri dapat dilihat pada galur tikus yang berpigmen (Rendi *et al.*, 2012).

Dinding vagina tersusun oleh mukosa yang terdiri atas epitel gepeng berlapis tanpa lapisan tanduk dan memiliki lipatan mendatar (*rugae*). Di dasar epitel terdapat jaringan ikat padat yang disebut lamina propria, mengandung banyak serat elastin, limfosit, leukosit polimorfonuklear, serta nodulus limfatikus. Membran basalis memisahkan antara jaringan epitel vagina dengan stroma. Pada bagian atas membran basalis terdapat lapisan sel-sel basal yang akan berdiferensiasi menjadi 5-6 lapis sel parabasal. Lapisan sel intermediet terdiri dari sel-sel besar, masing-masing memiliki inti yang beretikulasi dan terdapat vakuola glikogen dalam sitoplasma (Nalley, 2011).

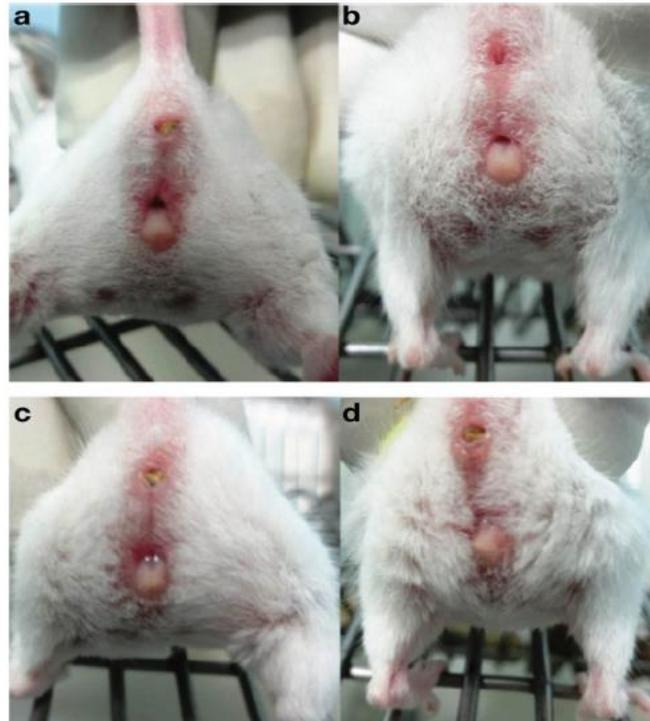
Secara keseluruhan lapisan epitel vagina terdiri atas satu lapis sel basal kubus, beberapa lapis sel parabasal, dan beberapa lapis sel intermediet tipis (epitel gepeng berlapis). Usia dan kadar hormon estrogen merupakan faktor yang mempengaruhi tingkat ketebalan lapisan epitel vagina, maturasi sel epitel, serta kandungan glikogen (Amran, 2010).

Sel intermediet terutama ditemukan selama fase luteal akhir dan folikuler awal siklus menstruasi, sedangkan sel superfisial banyak ditemukan saat ovulasi karena pengaruh tingginya kadar estrogen (Junquera dan Carnero, 1982). Sel superfisial dapat mengalami “kornifikasi” karena adanya kandungan keratin. Selama masa reproduksi, proses diferensiasi sel-sel basal dan pengelupasan sel superfisial ke dalam lumen vagina berlangsung secara konstan (Nalley, 2011).



Gambar 2.8 Histologi epitel vagina pada mencit normal (E) Epitel, (L) Lamina Propia, (M) Tunika Muskularis (Mescher, 2011).

Peluruhan biasa terjadi pada epitel vagina, hal tersebut dikenal dengan siklus estrus. Pada fase proestrus, lubang vagina tampak penuh, bengkak dan lembab. Jaringannya berwarna merah muda, dengan lurik di bibir dorsal dan ventral vulva. Pada fase estrus, vagina tampak mirip dengan proestrus, tetapi warnanya tidak terlalu merah muda, tidak terlalu bengkak, dan tidak terlalu lembab dengan lurik yang lebih menonjol. Pada fase metestrus, bukaan vagina pucat dan kering dengan serpihan sel putih. Pada fase diestrus lubang vagina yang sangat basah, yang terkadang terlalu kecil dan tertutup pada beberapa tikus tanpa pembengkakan jaringan (Ajayi & Akhigbe, 2020).



Gambar 2.9 Morfologi vagina mencit pada siklus estrus, (a) Fase proestrus, (b) Fase estrus, (c) Fase metestrus, (d) Fase diestrus (Ajayi & Akhigbe, 2020).

2.11 Siklus Estrus

Siklus estrus yang terjadi pada hewan nonprimata identik dengan siklus menstruasi yang terjadi pada hewan primata. Siklus ini berhubungan dengan perkembangan folikel telur dan endometrium uterus. Siklus estrus dikendalikan oleh hormon-hormon reproduksi yang dihasilkan oleh hipotalamus, hipofisis dan ovarium. Siklus estrus memiliki empat fase yaitu: diestrus, proestrus, estrus dan metestrus (Huda dkk, 2017).

Terdapat tiga fase siklus menstruasi pada manusia; fase menstruasi, proliferasi (folikular), dan sekretori (luteal). Siklus ini dimulai saat pubertas. Rata-rata, itu berlangsung sekitar 28 hari dari awal satu periode menstruasi hingga awal periode berikutnya. Pada pertengahan siklus, antara fase proliferasi dan sekretori, merupakan fase ovulasi dimana ovulasi terjadi setelah lonjakan LH. Fase

proliferatif biasa dikaitkan dengan kadar estrogen yang tinggi sedangkan fase sekretori dikaitkan dengan kadar progesteron yang tinggi (Ajayi & Akhigbe, 2020).

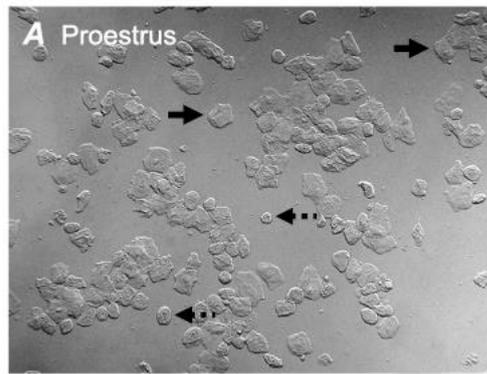
Fase proestrus sesuai dengan tahap folikel manusia, yang dikaitkan dengan peningkatan konsentrasi estradiol yang bersikulasi dan sedikit lonjakan prolaktin, hal ini menyebabkan peningkatan pelepasan LH dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Puncak konsentrasi FSH dengan penurunan cepat terkait kadar estradiol berkorelasi dengan fase ovulasi dan estrus. Metestrus dan diestrus masing-masing homolog dengan tahap sekresi awal dan akhir manusia dari siklus reproduksi, dengan tingkat progesteron yang tinggi. Siklus estrus biasa terjadi selama 4 hingga 5 hari (Tabel 1) (Ajayi & Akhigbe, 2020).

Tabel 2.1. Panjang siklus estrus (Ajayi & Akhigbe, 2020).

Fase Estrus	Panjang siklus (jam)
Proestrus	<24
Estrus	12-48
Metestrus	8-24
Diestrus	48-72

2.11.1 Fase proestrus

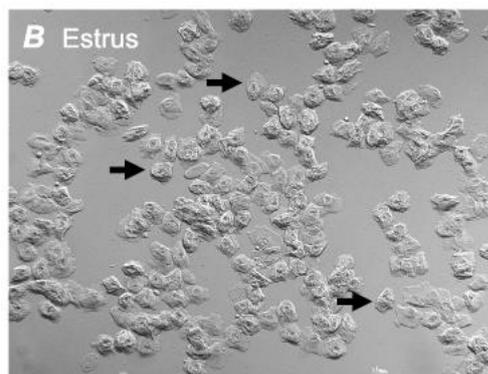
Fase proestrus adalah fase dimana hormon estrogen mengalami peningkatan dalam darah seiring dengan perkembangan folikel primer menjadi folikel de Graff yang distimulasi oleh hormon FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) (Mardika *et al.*, 2018). Fase proestrus didominasi sel-sel epitel berinti yang berbentuk oval dan memiliki inti yang jelas berada di tengah (Simatauw & Unitly, 2019).



Gambar 2.10 Gambaran apusan vagina pada fase proestrus (Dodds *et al.*, 2015).

2.11.2 Fase estrus

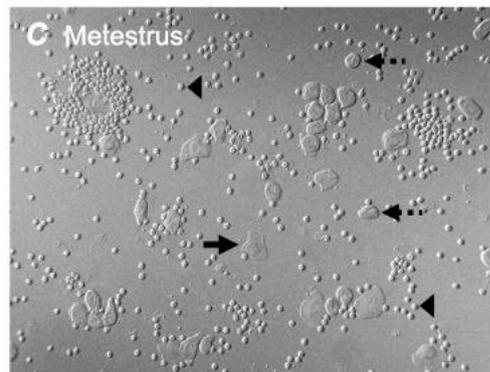
Fase estrus merupakan puncak dari peningkatan hormon esterogen dalam darah, tingginya kadar esterogen dalam darah menyebabkan sekresi hormon FSH menjadi rendah, sedangkan hormon LH (*Luteinizing Hormone*) mulai meningkat untuk merangsang pematangan sel telur (Mardika dkk, 2018). Fase estrus didominasi sel kornifikasi (sel tanduk) yang muncul secara tunggal atau bertumpuk (berlapis-lapis) (Simatauw & Unitly, 2019).



Gambar 2.11 Gambaran preparat apusan vagina pada fase estrus (Dodds *et al.*, 2015).

2.11.3 Fase metestrus

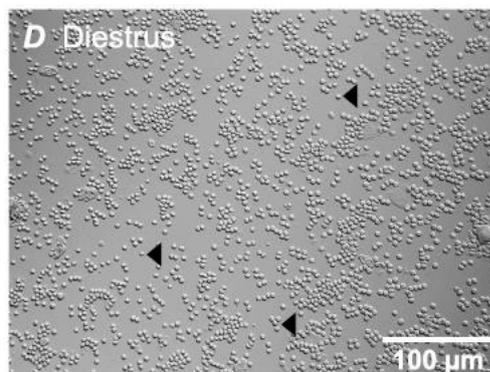
Metestrus merupakan periode singkat yang ditandai dengan penurunan fungsi korpus luteum tanpa pembuahan ketika aktivitas organ reproduksi secara bertahap mereda. Fase metestrus akan terlihat dengan adanya sel epitel berinti, sel kornifikasi dan leukosit yang secara kualitatif mendominasi hampir sama banyak (Simatauw & Unitly, 2019).



Gambar 2.12 Gambaran preparat apusan vagina pada fase metestrus (Dodds *et al.*, 2015).

2.11.4 Fase diestrus

Diestrus merupakan periode istirahat singkat selama musim berkembang biak. Fase diestrus didominasi oleh leukosit dan akan terdapat sel epitel berinti dalam jumlah yang sedikit (Simatauw & Unitly, 2019).



Gambar 2.13 Gambaran preparat apusan vagina pada fase diestrus (Dodds *et al.*, 2015).

2.11.5 Apusan vagina

Metode apusan vagina banyak digunakan secara luas untuk mengamati sitologi vagina, terutama pada fase siklus estrus. Metode ini non-invasif dan relative murah. Meskipun metode ini membutuhkan keterampilan untuk pemeriksaan mikroskopis sel-sel sekresi vagina, metode ini akurat dan dapat diandalkan (Sahoo *et al.* 2014).

Metode apusan vagina yang digunakan adalah metode oles dengan menggunakan cotton bud. Cotton bud dicelupkan ke dalam NaCl 0,9%, kemudian ujungnya diputar perlahan-lahan. Ujung cotton bud kemudian dioleskan pada object glass yang telah ditetesi larutan NaCl 0,9% lalu dibuat apusan tipis dan merata. Selanjutnya preparate difiksasi menggunakan alcohol 70% selama 5 menit, setelah ditetesi dengan pewarna Giemsa 1% dan dibiarkan selama dua menit agar apusan vagina dapat terwarnai. Preparat selanjutnya dicuci dengan aquades yang mengalir dan dikeringanginkan. Setelah kering, preparate diamati di bawah mikroskop stereo dengan perbesaran 400x (Sulastri dkk, 2014).

Sekresi vagina terdiri dari tiga jenis sel, yaitu leukosit, sel epitel kornifikasi dan sel epitel berinti. Perkiraan siklus estrus didasarkan pada proporsi sel-sel tersebut dalam sekresi vagina (Auta & Hasan, 2016).

Fase proestrus memiliki banyak sel berinti bulat yang seragam dalam ukuran dan penampilan. Sel tersebut dapat muncul individu atau dalam kelompok. Ada pula beberapa sel epitel kornifikasi yang tidak berinti. Terkadang juga ada beberapa sel darah putih pada Wanita di awal proestrus. Fase estrus menunjukkan banyak sel epitel kornifikasi enukleasi. Sitoplasma granular, dan sel-selnya

berbentuk tidak beraturan. Terkadang juga terlihat banyak bakteri dan beberapa sel epitel berinti (Ajayi & Akhigbe, 2020).

Sejumlah besar leukosit dan sejumlah kecil sel epitel kornifikasi besar, nongranular, dan tidak berinti akan terlihat pada fase metestrus. Pembentukan korpus luteum yang gagal untuk sepenuhnya luteinisasi karena kurangnya progesterone dan mengakibatkan pengelupasan lapisan rahim menyebabkan sel epitel kornifikasi dan leukosit polimorfonuklear hadir dalam apusan vagina. Beberapa sel epitel berinti juga dapat hadir pada fase metestrus akhir. Pada fase diestrus terlihat leukosit polimorfonuklear yang dominan serta beberapa sel epitel berinti dan kornifikasi. Leukosit tetap menjadi tipe sel yang dominan setelah menghilangkan puing-puing seluler (Ajayi & Akhigbe, 2020).

2.12 Mekanisme Kerja Hormonal Terhadap Siklus Reproduksi

Siklus estrus mewakili pola siklus aktivitas ovarium yang memfasilitasi hewan betina untuk beralih dari periode reseptivitas reproduksi ke nonreseptivitas yang pada akhirnya memungkinkan adanya pembentukan kebuntingan setelah kawin. Durasi normal siklus estrus pada sapi adalah 18-24 hari. Siklus terdiri dari dua fase diskrit: fase luteal (14-18 hari; metestrus dan diestrus) dan fase folikular (4-6 hari; proestrus dan estrus). Fase luteal adalah periode setelah ovulasi ketika korpus luteum terbentuk, sedangkan fase folikuler adalah periode setelah kematian korpus luteum (luteolisis) hingga ovulasi. Selama fase folikuler, pematangan akhir dan ovulasi dari folikel ovulasi terjadi yang mana mengarah pada pelepasan oosit (gamet betina) ke dalam saluran telur yang memungkinkan potensi pembuahan (Crowe, 2016).

Siklus estrus pada sapi diatur oleh hormon hipotalamus (*gonadotrophin-releasing hormone*; GnRH), hipofisis anterior (*follicle-stimulating hormone*; FSH dan hormon luteinizing; LH), ovarium (progesteron; P4, estradiol; E2, dan inhibin), dan uterus (prostaglandin $F_{2\alpha}$; PGF; Gambar 1). Hormon-hormon ini berfungsi melalui sistem umpan balik positif dan negatif untuk mengatur siklus estrus. GnRH adalah decapeptida yang pertama kali diisolasi dari hipotalamus babi. Kontrolnya terhadap siklus estrus dimediasi melalui aksinya pada hipofisis anterior yang mengatur sekresi gonadotrof, LH, dan FSH (Crowe, 2016).

Sekresi pulsatil GnRH basal dari pusat tonik hipotalamus dan lonjakan GnRH praovulasi dari pusat lonjakan hipotalamus mencegah desensitisasi reseptor GnRH pada sel gonadotrof hipofisis anterior. Setelah transportasi GnRH dari hipotalamus ke kelenjar hipofisis melalui sistem darah portal hipofisis, GnRH berikatan dengan reseptor *G-protein-coupled* pada permukaan sel sel gonadotrof. Pengikatan ini melepaskan kalsium intraseluler yang mengaktifkan perantara dalam jalur pensinyalan protein kinase yang diaktifkan-mitogen yang berpuncak pada pelepasan FSH dan LH dari kompartemen penyimpanan di sitoplasma. FSH hanya disimpan dalam granula sekretori di sitoplasma untuk waktu yang singkat, sedangkan LH disimpan untuk waktu yang lebih lama selama siklus estrus (Crowe, 2016).

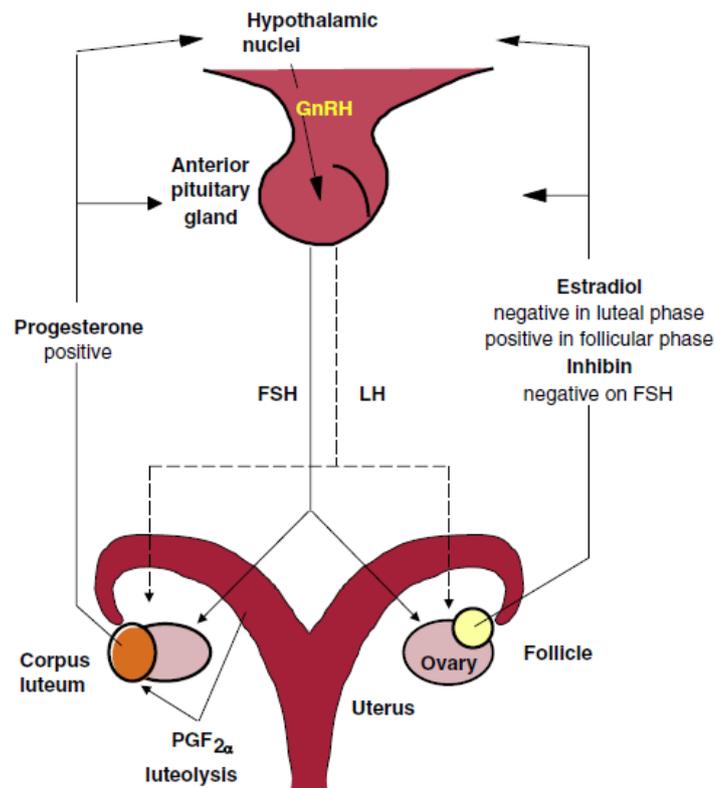
Selama fase folikuler dari siklus estrus, ada lingkungan hormonal progesteron basal karena regresi CL. Peningkatan konsentrasi E2, yang berasal dari proliferasi cepat folikel dominan praovulasi (DF), bersamaan dengan penurunan konsentrasi sirkulasi progesteron, menginduksi lonjakan GnRH dan

memungkinkan tampilan perilaku estrus selama sapi betina reseptif seksual dan akan siap untuk dipasangkan (Crowe, 2016).

Lonjakan GnRH praovulasi ini menginduksi lonjakan LH dan FSH secara kebetulan. Hanya ketika konsentrasi serum progesteron basal dan denyut LH terjadi setiap 40-70 menit selama 2-3 hari barulah DF berovulasi. Ovulasi terjadi 10-14 jam setelah estrus dan diikuti oleh fase luteal dari siklus estrus. Awal fase luteal juga dikenal sebagai metestrus dan biasanya berlangsung 3-4 hari. Hal ini ditandai dengan pembentukan CL dari folikel ovulasi yang mati (*corpus hemorrhagicum*) (Crowe, 2016).

Setelah ovulasi, konsentrasi progesteron mulai meningkat karena pembentukan CL di mana sel granulosa dan teka dari DF yang berovulasi mengalami luteinisasi dan menghasilkan progesteron dalam kesiapan untuk pembentukan dan pemeliharaan kehamilan dan/atau dimulainya kembali siklus estrus. Selama fase diestrus, konsentrasi progesteron tetap meningkat dan gelombang berulang perkembangan folikel terus diprakarsai oleh pelepasan FSH dari hipofisis anterior. Namun, DF yang tumbuh selama fase luteal dari siklus estrus tidak berovulasi (Crowe, 2016).

Fase luteal dominan progesteron dari siklus estrus, melalui umpan balik negatif, hanya memungkinkan sekresi gelombang LH dengan amplitudo yang lebih besar tetapi frekuensi yang lebih rendah yang tidak memadai untuk ovulasi DF. Akhirnya, selama periode proestrus, konsentrasi progesteron menurun saat CL mengalami regresi sebagai respons terhadap sekresi PGF dari uterus (Crowe, 2016).



Gambar 2.14 Diagram skematik mekanisme umpan balik endokrin dari sumbu hipotalamus-hipofisis-ovarium-rahim yang mengatur siklus estrus (Crowe, 2016).

2.13 Infertilitas

Infertilitas di definisikan sebagai ketidakmampuan untuk mencapai kehamilan setelah satu tahun melakukan hubungan tanpa adanya proteksi (Fritz & Speroff, 2012). Kondisi ini dialami oleh 10-12% pasangan diseluruh dunia (Maroufizadeh *et al.*, 2018), namun presentasinya akan lebih tinggi (sekitar 31,1%) pada negara berpenghasilan rendah-menengah (Polis *et al.*, 2017). Infertilitas dapat disebabkan oleh beberapa faktor, mulai dari faktor penentu perempuan dan laki-laki yang terkait secara terpisah hingga kombinasi faktor; terkadang, kondisi tersebut dipicu tanpa sebab yang jelas (Melodie & Christine, 2018).

Data yang didapat oleh *World Health Organization* (WHO) di tahun 2020 menunjukkan bahwa 15% pasangan dengan usia reproduktif di seluruh dunia mengalami infertilitas. Dalam perkiraannya WHO melaporkan bahwa sekitar 48 juta pasangan dan 186 juta individu di dunia hidup dengan infertilitas (WHO, 2020).

Infertilitas dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan infertilitas pada wanita diantaranya adalah adanya gangguan pada tuba fallopi, uterus, serviks dan vagina. Sedangkan pada pria, faktor-faktor yang dapat menyebabkan infertilitas antara lain varikokel, kelainan bentuk, serta jumlah maupun motilitas sperma. Selain itu, ada pula infertilitas yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya (Dewi dkk, 2022).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh nanopartikel bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*) terhadap fase-fase didalam siklus estrus mencit (*Mus musculus*) merupakan jenis penelitian eksperimental menggunakan (RAL) rancangan acak lengkap terdiri dari lima perlakuan dengan enam ulangan. Penentuan jumlah pengulangan dan sampel mencit pada penelitian ini menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$t(r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = *Treatment* (jumlah perlakuan)

r = *Replication* (jumlah pengulangan)

15 = Derajat kebebasan umum

Penelitian ini digunakan sebanyak 5 perlakuan, maka untuk menghitung jumlah pengulangan dalam penelitian ini sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 19/4$$

$$r \geq 4,75 = 5 \rightarrow r \text{ (replication/jumlah pengulangan)} = 5$$

Hasil perhitungan di atas diperoleh bahwa banyaknya pengulangan pada penelitian yaitu minimal 5 kali ulangan untuk tiap perlakuan pada penelitian. Berdasarkan perhitungan di atas pengulangan yang digunakan adalah sebanyak 6 kali ulangan, sehingga total mencit yang digunakan adalah sebanyak 30 ekor.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022- Mei 2023 , yang diawali dengan pembuatan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu manga (*Curcuma mangga*), dan jeringau (*Acorus calamus*) yang dilakukan di Laboratorium Kimia, Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri Malang, pembuatan nanopartikel dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Ma Chung, dan pengamatan terhadap hasil apusan vagina bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan betina model (*Mus musculus*) yang berusia 8 minggu, dengan berat 21-25 gram. Banyak sampel yang diperlukan sekitar 30 ekor mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan yang terdiri atas 6 ulangan.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variable bebas yang digunakan adalah normal (K-), kontrol positif (K+) (cisplatin dosis 5 ml/KgBB + kombinasi nanopartikel ekstrak dosis 0 mg/KgBB), P1 (cisplatin dosis 5 ml/KgBB + kombinasi nanopartikel ekstrak dosis 25 mg/KgBB), P2 (cisplatin dosis 5 ml/KgBB + kombinasi nanopartikel ekstrak dosis 50 mg/KgBB), P3 (cisplatin dosis 5 ml/KgBB) dan jamu subur kandungan 75 mg/KgBB.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah fase-fase dalam siklus estrus mencit (*Mus musculus*) yang terdiri dari fase proestrus, estrus, metestrus, dan fase diestrus serta lama siklus estrus mencit (*Mus musculus*).

3.4.3 Variabel Kontrol

Variable kontrol dalam penelitian ini yaitu menggunakan mencit (*Mus musculus*) berjenis kelamin betina dengan umur \pm 2-3 bulan galur Balb-C, dengan rentang berat badan \pm 21-25 gr, dan pemberian pakan BR 1 serta minum secara *ad libitum*.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang pemeliharaan hewan coba yang terbuat dari bak plastik dan ram kawat, tempat makan dan minum, spuit 1 cc, alat pencekok oral (*gavage*) 16 G, *cotton bud*, optilab, timbangan analitik, *rotary evaporator*, *magnetic stirrer*, *beaker glass* 50 ml dan 500 ml, Erlenmeyer 500 ml, kertas saring *Whatman*, gelas ukur 10

ml, labu ukur 100 ml, sonikasi, Particle Size Analyzer (PSA), Scanning Electron Microscope (SEM), corong gelas, pengaduk kaca, mikrotom, *hotplate*, *waterbath*, oven, pipet tetes, spatula, tube, serta mikroskop binokuler Nikon E 100.

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, untuk ekstraksi dan sintesis nanopartikel diantaranya terdiri dari 100 gram simplisia bawang putih (*Allium sativum*), 100 gram temu mangga (*Curcuma mangga*), dan 100 gram jeringau (*Acorus calamus*), ethanol 70%, Natrium Tripolifosfat (NaTPP), Tween 80, asam asetat glasial (AAG), dan kitosan. Bahan-bahan yang digunakan untuk hewan coba yaitu cisplatin, aquades, jamu subur kandungan (Jokotole), NaCl 0,9%, giemsa (Sigma-Aldrich), alcohol 70%, 80%, 90%, absolut, hematoxilin (Sigma-Aldrich), eosin (Sigma-Aldrich), parafin dan xylol.

3.6 Kegiatan Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba mencit yang digunakan diaklimatisasi selama 1 minggu sebelum perlakuan pada suhu kamar (20-25°C), terlebih dahulu disiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang terdiri atas kandang (bak plastik) dengan atap berupa kawat ram, tempat makan dan minum, serta sekam. Selama proses aklimatisasi dan perlakuan, mencit diberi pakan pellet BR 1 dan minum secara *ad libitum*.

3.6.2 Penentuan Dosis Perlakuan

Penentuan dosis perlakuan mengacu pada aturan minum jamu subur kandungan produksi PT. Ribkah Maryam Jokotole MaduraTM. Hasil perhitungan adalah sebagai berikut:

Kapsul jamu subur kandungan mengandung 500 mg yang diminum 8 kapsul/hr (2 x sehari masing-masing 4 kapsul)

$$\begin{aligned} \text{Dosis pada manusia} &= 500 \text{ mg} \times 8 \\ &= 4.000 \text{ mg/KgBB} \end{aligned}$$

Faktor konversi manusia ke mencit menurut Laurence (1964) = 0,018

$$\begin{aligned} \text{Dosis pada mencit dengan BB 25 gr} &= 4.000 \times 0,018 \\ &= 72 \text{ mg/KgBB} \\ &= 75 \text{ mg/KgBB} \end{aligned}$$

Sehingga didapatkan dosis pemberian jamu subur kandungan PT. Ribkah MaryamTM Jokotole Madura sebesar 75 mg/Kg BB.

3.6.3 Pembagian Kelompok Sampel

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

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

1. Kelompok kontrol – (perlakuan kontrol negative/ K-): Mencit normal diberi aquades 15 ml/kgBB.
2. Kelompok kontrol + (perlakuan kontrol positif/ K+): Mencit yang diberi perlakuan Cisplatin dosis 5 mL/KgBB dan diberi perlakuan nanopartikel ekstrak *A. sativum*, *C. manga*, dan *A. calamus* dosis 0 mg/KgBB mencit (diberi kitosan).
3. Kelompok 1 (perlakuan1): Mencit yang diberi perlakuan Cisplatin dosis 5 mL/KgBB dan diberi perlakuan nanopartikel ekstrak *A. sativum*, *C. manga*, dan *A. calamus* dosis 25 mg/KgBB mencit.
4. Kelompok 2 (perlakuan 2): Mencit yang diberi perlakuan Cisplatin dosis 5 mL/KgBB dan diberi perlakuan nanopartikel ekstrak *A. sativum*, *C. manga*, dan *A. calamus* dosis 50 mg/KgBB mencit.
5. Kelompok 3 (perlakuan 3): Mencit yang diberi perlakuan Cisplatin dan jamu subur kandungan Jokotole™ dosis 75 mg/KgBB mencit.

3.6.4 Persiapan Hewan Coba

Persiapan hewan coba dimulai dengan aklimatisasi selama 1 minggu, kemudian dilakukan injeksi cisplatin, selanjutnya yakni pengecekan siklus estrus selama 10 hari, kemudian diberi kombinasi nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma manga*, dan *Acorus calamus* kepada mencit menggunakan metode sonde lambung. Pemberian kombinasi nanopartikel dilakukan setiap hari selama 15 hari.

3.6.5 Preparasi Sampel Tumbuhan

Penelitian ini menggunakan sampel simplisia *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus*. Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi perbandingan 1:4. Komposisi nanopartikel terdiri dari 36 gr simplisia *Allium sativum*, 36 gr *Curcuma mangga*, dan 28 gr *Acorus calamus* dimasukkan ke dalam *beaker glass*, selanjutnya ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 300 ml dalam 100 gr simplisia. Larutan tersebut diaduk dan didiamkan dalam waktu 24 jam. Maserat disaring menggunakan kertas saring, selanjutnya ampas hasil penyaringan pertama direndam kembali menggunakan etanol dengan perbandingan yang sama setiap pengulangan sebanyak 3 kali penyaringan. Pengambilan nanopartikel dilakukan dengan metode *rotary vacuum evaporator* dengan digunakan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak yang pekat (Chairunnisa *et al.*, 2019).

3.6.6 Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan nanopartikel ekstrak mengacu pada metode penelitian Pakki dkk (2016), dengan adanya beberapa modifikasi. Proses pembuatan nanopartikel ekstrak dilakukan dengan menyiapkan 0,5 ml asam asetat glasial (AAG) dalam 100 ml aquades, kemudian menambahkan 0,5 gr kitosan dan dihomogenkan. Larutan STTP 0,1 gr ditambahkan ke dalam 20 ml aquades, dan dihomogenizer selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Campuran asam asetat glasial dengan tambahan kitosan dan larutan STTP tersebut dicampurkan dengan kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga, dan jeringau 0,1 gr.

Kemudian dihomogenizer dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Menambahkan Tween 80 dengan ukuran 1 ml dan dihomogenkan menggunakan *high pressure homogenizer* dengan kecepatan 10.000 rpm selama 60 menit.

Larutan tersebut selanjutnya disonikasi pada frekuensi 20 kHz dengan amplitude 80% selama 90 menit. Hasil dari sonikasi dimasukkan dalam tube ukuran 15 ml untuk disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 6.000 rpm. Diambil pellet hasil sentrifugasi kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri untuk dianginkan dalam *incubator*. Pellet yang telah kering, kemudian dihaluskan dengan nitrogen cair untuk memperoleh serbuk nanopartikel. Pemberian nanopartikel diberikan selama 15 hari atau setara dengan 3 kali siklus estrus.

3.6.7 Penentuan Populasi dan Sampel

Penelitian ini dibutuhkan 30 ekor mencit betina yang terdiri atas 5 perlakuan dan 6 ulangan, dengan kriteria sebagai berikut: mencit betina strain BALB/c, umur 2-3 bulan dengan berat 21-25 gram.

3.6.8 Membuat Kondisi Infertil dengan Pemberian Cisplatin

Pemberian perlakuan cisplatin untuk membuat mencit menjadi infertile mengacu pada penelitian Yucebilgin *et al* (2004), yaitu dilakukan melalui injeksi *single dose* secara intraperitoneal dengan dosis 5 mg/Kg BB. Cisplatin tersedia dalam bentuk larutan dengan komposisi 50 mg/50 ml. Perlakuan mencit setelah diaklimatisasi 1 minggu kemudian disuntik cisplatin sebanyak 5 mg/Kg BB melalui injeksi peritoneal. Setelah 24 jam, dicek siklus estrusnya selama 10

hari atau 2 kali siklus estrus untuk memastikan bahwa estrus berhenti atau menciit dalam keadaan diestrus.

3.6.9 Pemeriksaan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina

Pengecekan siklus estrus, pertama membuat preparat apusan vagina, pukul 07.00 WIB selama 15 hari. Pembuatan apusan dilakukan menggunakan pipet yang didalamnya terdapat larutan NaCl, pipet dimasukkan secara perlahan ke dalam vagina menciit dengan mengeluarkan larutan NaCl dan disedot kembali hingga beberapa kali ulangan. Hasilnya diteteskan pada objek glass dan ditunggu sampai kering. Setelah apusan kering tetesi apusan dengan larutan ethanol 10% untuk difiksasi selama 3 menit. Setelah itu tetesi apusan dengan giemsa selama 5 menit dan bilas dengan aquades, tunggu sampai kering. Kemudian amati apusan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x. fase estrus dapat di tentukan dengan melihat perbandingan sel menanduk, sel epitel berinti, dan leukosit (Assa'idah, 2018).

3.6.10 Pemberian Kombinasi Nanopartikel

Pemberian kombinasi nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* dilakukan secara oral melalui pencekogan (sonde lambung) menggunakan spuit 2 ml setelah berada pada fase estrus. Nanopartikel diberikan setiap hari pada pukul 09.00 WIB selama 15 hari sesuai dosis yang telah ditentukan.

3.6.11 Pengamatan Lama Fase-fase dalam Siklus Estrus

Pengamatan lama siklus estrus diperoleh melalui apusan vagina yang dilakukan 2 kali dalam sehari pada jam 07.00 WIB dan 16.00 WIB, fase estrus ditentukan dengan mengamati sel-sel dominan pada apusan vagina, fase proestrus didominasi oleh sel-sel epitel berinti, fase estrus didominasi oleh sel epitel kornifikasi, fase metestrus terdiri dari $\pm 50\%$ sel epitel kornifikasi dan $\pm 50\%$ leukosit, dan pada fase diestrus terdiri dari 80-100% leukosit dengan kemungkinan keberadaan sel epitel kornifikasi (Shan *et al.*, 2020). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler Nikon E dan bantuan *optiLab* dan komputer, setelah itu ditentukan fase siklus estrus dan dihitung berapa lama fase estrus dalam siklus estrus.

3.7 Analisis Data

Data hasil perhitungan sel dibawah mikroskop tersebut di uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-smirnov* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Kemudian dilakukan uji *one way* ANOVA. Ketika ditemukan perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan DMRT data analisis menggunakan aplikasi SPSS.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

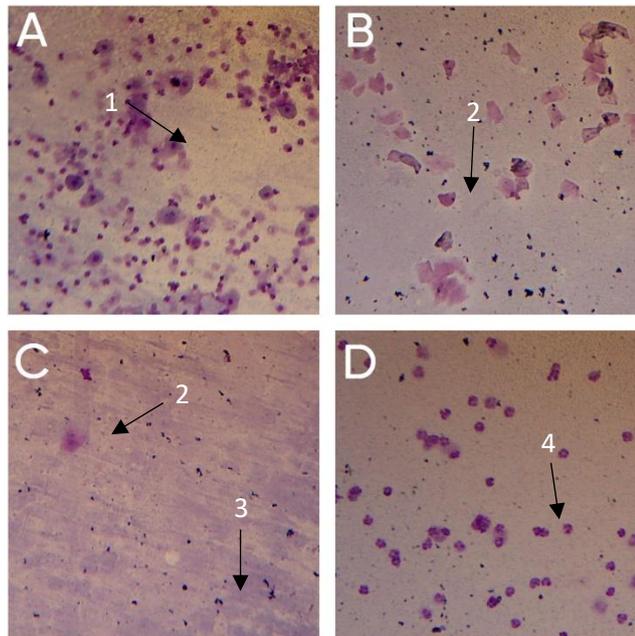
4.1 Pengaruh Nanopartikel Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* Terhadap Lama Setiap Fase Selama Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Cisplatin

Infertilitas dapat ditandai dengan lama masa estrus yang lebih singkat dari seharusnya. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, induksi cisplatin dapat mempengaruhi fertilitas ditandai dengan lama fase estrus yang lebih singkat. Perlakuan K+ (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 0 mg/kgBB) memiliki lama waktu estrus selama 10,25 jam yang lebih singkat dibandingkan dengan K- (aquades) sebagai kontrol normal yang mengalami lama fase estrus selama 14,75 jam (Tabel 4.1). Hal ini sejalan dengan penelitian Altuner (2013) yang menyatakan bahwa cisplatin mampu memicu terjadinya gangguan infertilitas yang disebabkan adanya gonadotoksik pada ovarium. Gonadotoksik yang terjadi akan menyebabkan stress oksidatif yang meningkat selama masa folikuler pada siklus estrus, ditandai dengan meningkatnya nilai Status Total Oksidasi (TSO), Status Antioksidan Total (TAS), dan Parameter Stress Oksidatif (OSI) (Aydilek et al., 2014).

Tabel 4.1 Hasil uji lanjut pengaruh pemberian nanopartikel pada lama fase estrus dalam jam

Kelompok Perlakuan	Rata-rata	Notasi
K-	14,75	b
K+	10,25	a
P1	18,00	c
P2	19,83	d
P3	15,25	b

Hasil pengamatan yang telah dilakukan pada preparat vagina yang sudah diberi perlakuan dan diamati di mikroskop dengan perbesaran 100x dengan bantuan optilab dan komputer menghasilkan gambar apusan vagina dibawah ini:



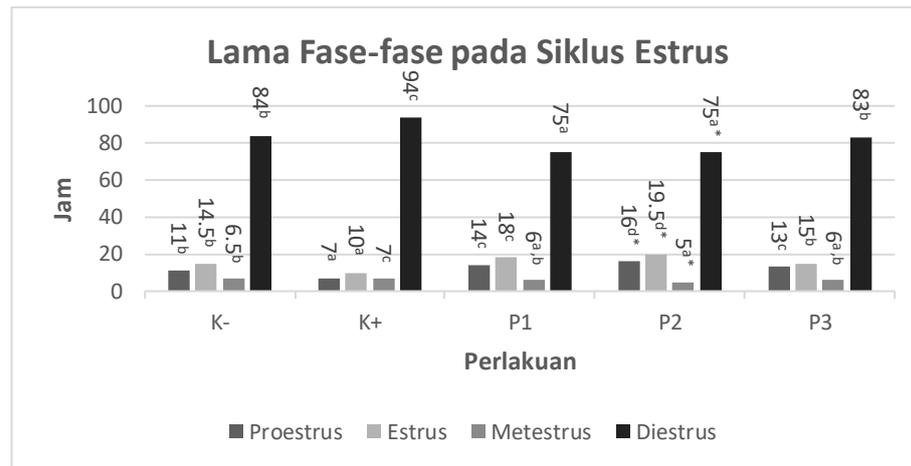
Gambar 4.2 Hasil pemeriksaan setiap fase siklus estrus (1. Sel Epitel Berinti, 2. Sel Epitel Kornifikasi, 3. Leukosit).

Keterangan: A. Fase Proestrus, B. Fase Estrus, C. Fase Metestrus, D. Fase Diestrus. Pengamatan menggunakan mikroskop binokuler Nikon E dan bantuan optiLab (perbedaran 100x).

Pada (Gambar 4.3) menunjukkan gambaran sel pada setiap fase yang ditampilkan dalam bentuk mikroskopis, terlihat sel-sel berinti ditengah dan berbentuk oval mendominasi pada fase proestrus, sedangkan adanya sel kornifikasi atau sel bertanduk yang dominan terjadi pada fase estrus. Pada fase metestrus terlihat adanya sel kornifikasi dan leukosit yang jumlahnya nyaris sama, sebaliknya pada fase diestrus terlihat dominansi leukosit pada mikroskop pengamatan. Hal ini

sesuai dengan pernyataan Simatauw & Unitly (2019) yang menyatakan bahwa fase proestrus didominasi sel-sel epitel berinti, fase estrus didominasi sel kornifikasi (sel tanduk), fase metestrus akan terlihat dengan adanya sel kornifikasi dan leukosit yang secara kualitatif mendominasi hampir sama banyak, dan fase diestrus akan didominasi oleh leukosit.

Hasil pengamatan kemudian dianalisis menggunakan software SPSS untuk uji normalitas dan homogenitas, kemudian uji lanjut DMRT sebab hasil ANOVA menunjukkan perbedaan. Hasil uji normalitas data lama fase dalam siklus estrus menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* ($\alpha = 0,05$) diperoleh nilai pada semua fase selama siklus estrus sebesar ($0,200 > 0,05$), artinya data hasil berdistribusi normal (Lampiran 2, 3, 4, & 5). Hasil uji homogenitas ($\alpha = 0,05$) data lama fase dalam siklus estrus secara berurutan dari fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus diperoleh nilai ($0,582, 0,821, 0,988, \text{ dan } 0,946 > 0,05$), artinya data hasil tersebut sudah homogen (Lampiran 2, 3, 4, & 5) dan telah memenuhi syarat untuk uji *one way* ANOVA. Tahap selanjutnya adalah dilakukan uji homogenitas dengan nilai $\alpha = 0,05$ (Lampiran 2, 3, 4, & 5). Hasil uji *one way* ANOVA ($\alpha = 0,05$) lama fase dalam siklus estrus diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan dengan nilai signifikansi ($0,000 \text{ \& } 0,006 < 0,05$). Kemudian dilakukan uji lanjut DMRT ($\alpha = 0,05$) untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar perlakuan, sebagai berikut (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Grafik rata-rata dari pengaruh nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus*.

Hasil uji DMRT lama fase proestrus diketahui bahwa, waktu rata-rata fase proestrus paling lama dimiliki oleh perlakuan P2 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 50 mg/kgBB) dengan nilai rerata 16,25 jam, kemudian diikuti oleh P1 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 25 mg/kgBB) selama 14,25 jam, P3 (cisplatin + jamu 75 mg/kgBB) selama 13,25 jam, K- (Aquadec) selama 11,25 jam, dan K+ (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 0 mg/kgBB) selama 7,16 jam. Lama fase proestrus perlakuan P2 berbeda nyata dengan perlakuan K+, K-, P1, dan P3. Lama fase proestrus perlakuan P1 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3, akan tetapi berbeda nyata dengan perlakuan K+, K-, dan P2. Perlakuan K- memiliki perbedaan nyata dengan perlakuan lainnya, begitu pula dengan perlakuan K+ yang juga berbeda nyata dengan perlakuan lain.

Hasil uji DMRT lama fase estrus diketahui bahwa, rata-rata waktu yang paling lama dimiliki oleh perlakuan P2 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 50 mg/kgBB) selama 19,83 jam, diikuti oleh perlakuan P1 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 25 mg/kgBB) selama 18,00 jam, P3 (cisplatin + jamu 75

mg/kgBB) selama 15,25 jam, K- (aquades) selama 14,75 jam, dan K+ (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 0 mg/kgBB) selama 10,25 jam. Lama fase estrus perlakuan P2 berbeda nyata dengan perlakuan K+, K-, P1, dan P3. Lama fase estrus perlakuan P3 tidak berbeda dengan perlakuan K- namun berbeda nyata dengan perlakuan K+, P1, dan P2. Perlakuan P1 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, begitu pun perlakuan K+ yang juga berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Perlakuan P2 memiliki lama fase proestrus dan fase estrus paling lama diantara yang lain dengan panjang fase berturut-turut selama 16,25 dan 19,83 jam. Fase proestrus yang lebih lama dapat memberikan lebih banyak waktu untuk perkembangan folikel, yang dapat menghasilkan produksi oosit yang lebih matang dan kemungkinan keberhasilan pembuahan yang lebih tinggi. Serta fase estrus yang lebih lama juga dapat meningkatkan peluang keberhasilan perkawinan dan pembuahan, karena memberikan lebih banyak peluang bagi betina untuk menunjukkan penerimaan seksual dan bagi jantan untuk mendeteksi tandatandanya (Crowe, 2016).

Kelompok perlakuan P1 dan P2 yang diberi perlakuan cisplatin dan nanopartikel ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* dengan dosis 25 dan 50 mg/KgBB terdapat adanya peningkatan waktu lama fase proestrus dan estrus pada mencit betina. Hal tersebut disebabkan karena adanya pengaruh dari kombinasi nanopartikel ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* dimana dari ketiga bahan tersebut memiliki kandungan antioksidan yang berfungsi sebagai senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidatif dari makanan atau obat-obatan tertentu, sehingga senyawa tersebut mampu menangkal radikal bebas seperti halnya efek yang ditimbulkan terhadap

cisplatin. Menurut Zheng & Wang (2009) antioksidan memiliki peranan yang sangat penting bagi Kesehatan manusia karena memiliki fungsi yang dapat menghambat dan menetralsir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas. Netralisir dilakukan dengan cara memberikan satu elektron sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil atau terjadi reaksi terminasi dan reaksi-reaksi radikal berakhir atau stress oksidatif tidak terjadi pada sel.

Kombinasi ketiga bahan nanopartikel ekstrak dapat merangsang pembentukan estrogen pada mamalia, yang memiliki struktur mirip yang mirip dengan struktur fitoestrogen berikatan dengan estrogen dalam organ vagina. Dimana diketahui bahwa fase estrus terjadi karena adanya hormon estrogen yang semakin tinggi, sehingga sel epitel akan berubah menjadi sel kornifikasi. Selain itu tingginya kadar estrogen juga memicu terjadinya ovulasi yang disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi *Luteinizing Hormone* (LH) dan akan terjadi ovulasi folikel yang akan membesar serta pematangan pada ovum (Sherwood, 2001). Menurut Dharma (2012) lama fase estrus akan memberikan peluang folikel matang lebih banyak dan estrogen akan bersekresi sehingga betina akan menerima perkawinan dari jantan.

Kelompok perlakuan P1 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 25 mg/kgBB) dan P2 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 50 mg/kgBB) memiliki waktu fase proestrus dan estrus yang lebih lama dibandingkan dengan kelompok P3 (cisplatin + jamu 75 mg/kgBB). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan teknologi nanopartikel mampu meminimalisir dosis obat yang dibutuhkan karena penyerapan zat aktif lebih maksimal. Hoshyar *et al.*, (2016) menyatakan bahwa ukuran partikel dapat mempengaruhi penyerapan seluler karena

terdapat kekuatan adhesi yang mengatur antara nanopartikel dan reseptor seluler. Selain itu penggunaan kitosan sebagai penyalut pada nanopartikel yang digunakan pada penelitian ini memiliki sifat khas yang tidak dimiliki oleh polimer lain. Kitosan dilaporkan memiliki kemampuan untuk membuka kait antar sel (*tight junction*) pada membrane usus secara sementara. Kitosan juga dapat melepas obat secara bertahap dalam waktu yang cukup lama, sehingga dapat meminimalkan pemberian berulang (Martin *et al.*, 2012). Namun kitosan juga memiliki *side effect* yang dapat menyebabkan masalah pencernaan, reaksi alergi dan gangguan dalam penyerapan nutrisi seperti vitamin yang larut dalam lemak (A, D, E, dan K) serta gangguan penyerapan kalsium dan magnesium.

Pada fase folikuler siklus estrus (fase proestrus & fase estrus), sel epitel berinti akan berubah menjadi sel epitel kornifikasi (sel tanduk) kemudian sel epitel kornifikasi akan luruh dan mulai muncul leukosit. Munculnya leukosit menandakan adanya inflamasi yang terjadi saat luruhnya sel epitel kornifikasi (sel tanduk). Sehingga pada fase luteal (fase metestrus & fase diestrus) siklus estrus akan didominasi oleh leukosit. Pada proses penyembuhan akibat inflamasi ini, semakin cepat fase luteal berakhir maka semakin cepat pula fase folikuler dapat dimulai dan semakin memperbesar peluang terjadinya kehamilan (Ajayi & Akhigbe, 2020).

Hasil uji DMRT pada (Gambar 4.1) lama fase metestrus diketahui bahwa rata-rata lama waktu metestrus paling singkat terdapat pada perlakuan P2 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 50 mg/kgBB) selama 5,33 jam, diikuti oleh perlakuan P1 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 25 mg/kgBB) dan P3 (cisplatin + jamu 75 mg/kgBB) selama 6,08 jam, kemudian diikuti perlakuan K- (aquades) selama 6,5 jam, dan K+ (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 0

mg/kgBB) selama 7,41 jam. Lama waktu fase metestrus pada perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P1 dan P3. Lama waktu metestrus pada perlakuan P1 dan P3 tidak berbeda nyata dengan perlakuan K-. Lama waktu fase metestrus K+ berbeda dengan perlakuan yang lain dan menjadi perlakuan dengan waktu metestrus terlama.

Hasil uji DMRT pada (Gambar 4.1) lama fase diestrus diketahui bahwa rata-rata lama fase diestrus yang paling singkat dimiliki oleh perlakuan P2 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 50 mg/kgBB) selama 74,9 jam, diikuti oleh perlakuan P1 (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 25 mg/kgBB) selama 75,45 jam, P3 (cisplatin + jamu 75 mg/kgBB) selama 83,25 jam, K- (aquades) selama 84,13 jam, dan K+ (cisplatin + nanopartikel kombinasi ekstrak 0 mg/kgBB) selama 94,1 jam. Lama fase diestrus perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P1, namun berbeda nyata dengan perlakuan P3, K-, dan K+. Perlakuan P3 tidak berbeda nyata dengan perlakuan K-, namun berbeda nyata dengan perlakuan K+, P1, dan P2. Perlakuan K+ berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Perlakuan P2 memiliki lama fase metestrus dan diestrus paling singkat diantara perlakuan yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa inflamasi akibat peluruhan sel epitel kornifikasi pada perlakuan P2 dapat disembuhkan dengan lebih cepat. Kecepatan dalam penyembuhan inflamasi yang terjadi ini bisa terjadi karena kombinasi nanopartikel yang diberikan juga memiliki fungsi sebagai antiinflamasi.

Senyawa allicin pada *Allium sativum* (bawang putih) memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi. Allicin diketahui menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, yang dapat membantu melindungi sel dari kerusakan dan mengurangi

peradangan dalam tubuh. Selain itu, bawang putih mengandung senyawa sulfur lainnya, seperti diallyl disulfide dan S-allyl cysteine, yang juga berkontribusi terhadap sifat antioksidannya (Muchtarmah *et al.*, 2017).

Temu mangga dan jeringau juga memiliki kandungan bahan aktif yang cukup penting antara lain senyawa kurkumin, flavonoid, polifenol dan asam *p-hidroksisinamat* yang meningkatkan aktivitas antioksidan dalam tubuh (Hartono *et al.*, 2020). Aktivitas antioksidan jeringau didukung oleh kandungan bahan aktif alkaloid, flavonoid, fenol, saponin dan triterpenoid (Umamaheshwari & Rekha, 2018). Gugus fenol dalam senyawa flavonoid memiliki kemampuan mengurangi pembentukan peroksidasi lipid untuk meredam radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen ke radikal peroksil yang membentuk radikal flavonoid sehingga bereaksi dengan oksigen reaktif sehingga menjadi netral (Yuslianti, 2018).

Selain antioksidan *Curcuma mangga* (temu mangga) juga mengandung antiinflamatori, yang terkandung dalam beberapa senyawa bioaktif seperti curcuminoids dan diterpenes (Srirod & Tewtrawakul, 2019). Penelitian Huang *et al.* (2023) menyatakan bahwa senyawa (-)-syringaresinol 4-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside pada *Acorus calamus* memiliki aktivitas antiinflammatory yang baik. Dengan demikian, kombinasi antara *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* memiliki kemampuan yang baik sebagai antiinflamantori sehingga penyembuhan inflamasi yang terjadi setelah fase estrus dapat disembuhkan dengan lebih cepat dan efektif.

4.2 Kajian Al-Qur'an dan Hadits Terkait Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi nanopartikel ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* dapat meningkatkan waktu lama fase proestrus dan estrus. Hal tersebut dipengaruhi kandungan fitoestrogen pada ketiga tumbuhan tersebut yang berperan dalam proses perbaikan sel yang disebabkan oleh toksisitas cisplatin.

Al-Qur'an mengakui bahwa infertilitas adalah salah satu kesulitan dan mendorong pencarian obat untuk infertilitas. Hal ini disebutkan dalam kisah nabi Ibrahim dan istrinya Sarah, serta pada nabi Zakaria dan istrinya, sebagai contoh infertilitas (Fadel, 2002). Hasil penelitian mengenai nanopartikel kombinasi ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap lama fase dalam siklus estrus dapat dikatakan sesuai dengan pengobatan yang dibutuhkan untuk memperbaiki gangguan organ reproduksi seperti *reversible infertility*. Kesesuaian obat terhadap pemulihan penyakit selaras dengan HR. Bukhari No. 5246

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ الْمُثَنَّى، حَدَّثَنَا أَبُو أَحْمَدَ الزُّبَيْرِيُّ، حَدَّثَنَا عُمَرُ بْنُ
سَعِيدِ بْنِ أَبِي حُسَيْنٍ، قَالَ حَدَّثَنِي عَطَاءُ بْنُ أَبِي رَبَاحٍ، عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ.
رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ . عَنْ النَّبِيِّ ﷺ قَالَ
" مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً "

Artinya: "Dari Abu Huraira, ia berkata bahwasanya Rasulullah SAW bersabda Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga yang menurunkan penawarnya." (HR. Bukhari No. 5246)

Hadits tersebut secara tidak langsung merupakan jaminan dari Allah kepada manusia, sehingga perlu dilakukan pencarian obat melalui segala sesuatu yang Allah ciptakan dimuka bumi. Salah satu upaya yang dilakukan dalam penelitian ini

adalah saintifikasi obat hormonal agar mendapatkan dosis tepat dengan efektifitas terbaik. Upaya tersebut secara implisit terdapat dalam QS. Al-Furqan [25]:2

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ۚ

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)

Dari kata *فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا* menurut tafsir Al-Qurthubi dalam kitab Al-Jami’li

Ahkam Al-Qur’an (2008) menjelaskan bahwa Allah SWT menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya. Maksud dari penggalan ayat tersebut adalah Allah menetapkan segala sesuatu dari apa yang diciptakan-Nya sesuai dengan hikmah yang diinginkan-Nya, dan bukan karena nafsu atau kelalaian, melainkan segala sesuatu berjalan sesuai dengan ketentuan-Nya. Sebagaimana dalam penelitian ini, termasuk dalam ketetapan adalah pencarian dosis aturan minum pada tiap perlakuan. Upaya untuk mencari dosis atau kadar yang tepat untuk memperoleh efek fitoestrogen yang optimal dari kombinasi ekstrak nanopartikel dengan bahan *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus*.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* berpengaruh terhadap lama fase selama siklus estrus mencit. Mencit yang diinduksi cisplatin dan diberi nanopartikel pada dosis 50 mg/kgBB menjadi dosis yang paling optimal dengan lama fase proestrus selama 16,25 jam, fase estrus selama 19,83 jam, fase metestrus selama 5,33 jam, dan fase diestrus selama 74,90 jam.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek kitosan terhadap kesuburan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, Marline. (2009). Nanopartikel dengan Gelasi Ionik. *Farmaka*, 15(1).
- Ahdyani, R., Rahayu, S., & Zamzani, I. (2020). Review: Pengembangan Sistem Penghantaran Berbasis Nanopartikel Dalam Sediaan Kosmesetika Herbal (Review: Development of Nanoparticel-Based Delivery System In Herbal Cosmesetics). *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 2598–2095.
- Ajayi, A. F, Akhigbe, R. E. (2020). Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertility Research and Practice*, 6(5).
- Akbar, B. (2010). *Tumbuhan Dengan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Anti Infertilitas*. Adabia Press.
- Altuner, Durdu, *et al.* (2013). The Effect of Mirtazapine on Cisplatin-Induced Oxidative Damage and Infertility in Rat Ovaries. *The Scientific World Journal*.
- Amran, R. (2010). Menentukan Menopause Berdasarkan Indeks Maturasi Dan Ph Vagina. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 3(43).
- Andriana, Diah. (2021). *Pengaruh Fraksi Air Ekstrak Rimpang Temu Mangga (Curcuma mangga, Val) Terhadap Ekspresi Ki67 Pada Galur Sel Karsinoma Kolon HT-29*. Malang: Unisma Press.
- Auta, T, Hassan A. T. (2016). Alteration in oestrus cycle and implantation in *Mus musculus* administered aqueous wood ash extract of *Azadirachta indica* (neem). *Asian Pasific Journal Reproduction*, 5(3), 188-92.
- Barakat, R.R., Perelman, R., Markman, M., Randall, M. (2009). Principles And Practice of Gynecology Oncology, *Lippincot Williams Wilkins*; 25: 386-391.
- Bertolin, K., & Murphy, B. D. (2014). *Reproductive Tract Changes During the Mouse Estrous Cycle*. In *The Guide to Investigation of Mouse Pregnancy* (pp. 85–94). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394445-0.00007-2>
- Bonifácio, B. V., da Silva, P. B., Aparecido dos Santos Ramos, M., Maria Silveira Negri, K., Maria Bauab, T., & Chorilli, M. (2013). Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: A review. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.2147/IJN.S52634>
- Busman, H. (2013). Histologi Ulas Vagina Dan Waktu Siklus Estrus Masa Subur Mencit Betina Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpun Teki. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Byers, S. L., Wiles, M. v., Dunn, S. L., & Taft, R. A. (2012). Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS ONE*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035538>
- Crowe, M. (2016). *Reproduction, Events and Management: Estrous Cycles: Characteristics*. Ireland: Elsevier Inc.
- Dasari, S dan Paul B.T. (2014). Cisplatin in Cancer Therapy: *Molecular Mechanisms of Action*. *Eur J Pharmacol*. 5: 364–378.

- Fadel, Hossam E. (2002). The Islamic Viewpoint On New Assisted Reproductive Technologies. *Fordham Urban Law Journal*, 30(1).
- Fitri, D. R., Syafei, D., & Sari, C. P. (2021). Karakteristik Nanopartikel Ekstrak Etanol 70% Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Higea*, 13(1).
- Florea, AM, dan Busselberg D. (2011). *Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity*. Drug Resistance and Induced Side effect Cancers. 3:1351-1371
- Fritz, MA, Speroff L. (2012). *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Ippincott Williams & Wilkins.
- Hartati, S., & Desmariyenti. (2020). Hubungan Lama Penggunaan Kb Suntik 3 Bulan Dengan Ketidakteraturan Siklus Menstruasi di Puskesmas Simpang Tiga Pekanbaru Tahun 2017. *Jurnal Endurance: Kajian Ilmiah Problema Kesehatan*, 5(3), 564–568. <https://doi.org/10.22216/jen.v5i3.4263>
- Hartono, Y. I., Widyastuti, I., Luthfah, H. Z., Islamadina, R., Can, A. T., & Rohman, A. (2020). Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Temu mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) and its Classification with Chemometrics. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 4.
- Hoshyar, N., Gray, S., Han, H., & Bao, G. (2016). The effect of nanoparticle size on in vivo pharmacokinetics and cellular interaction. *Nanomedicine*, 11(6), 673–692.
- Huang, Liping., Feng, Zhenying., Xiang, Jie., Deng, Minzhen., & Zhou, Zhongliu. (2023). Anti-inflammatory compounds from the rhizome of *Acorus calamus* var. *angustatus* Besser and their mechanism. *Natural Product Research*.
- Huda, Nadayatul Khaira, dkk. (2017). Pengaruh Ekstrak Sambioloto (*Andrographis paniculate* Nees.) Terhadap Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L. Swiss Webster). *EKSAKTA* 18(2).
- 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. <https://doi.org/10.26911/thejmch.2017.02.02.06>
- Junqueira, L.C., dan Carneiro, J. (1982). *Histologi Dasar (Basic Histology)*. Edisi III. Alih Bahasa Adji Dharma. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal. 255.
- Kulhan, N. G., Kulhan, M., Turkler, C., Ata, N., Kiremitli, T., Kiremitli, S., Cimen, F. K., Suleyman, H., & Toprak, V. (2019). Effect of lycopene on oxidative ovarian damage induced by cisplatin in rats. *General Physiology and Biophysics*, 38(3), 253–258. https://doi.org/10.4149/gpb_2019006
- Kusumawati, Diah. (2004). *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Lacomte, S., Demay, F., Ferrière, F., & Pakdel, F. (2017). Phytochemicals targeting estrogen receptors: Beneficial rather than adverse effects?. *International Journal of Molecular Science*, 18(7), 1-19.
- Li, S., Herrera, G. G., Tam, K. K., Lizarraga, J. S., Beedle, M. T., & Winuthayanon, W. (2018). Estrogen Action In The Epithelial Cells Of The Mouse Vagina Regulates Neutrophil Infiltration And Vaginal Tissue Integrity. *Scientific Reports*, 8(1), 1–13.
- Lim, T.K. (2016). *Curcuma mangga*. In: Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. Springer, Cham.

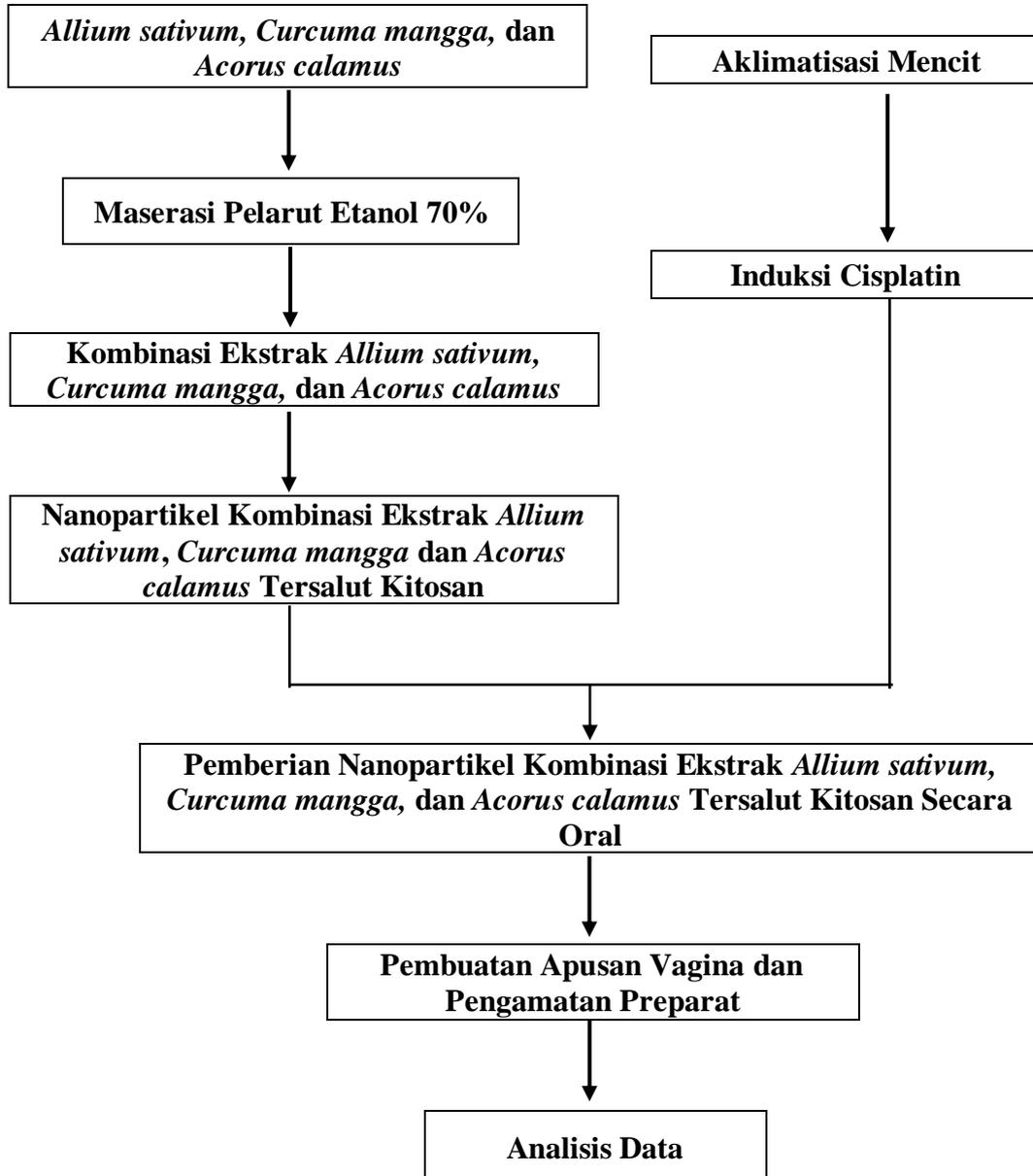
- Mancini, V., & Pensabene, V. (2019). Organs-on-chip models of the female reproductive system. *Bioengineering*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/bioengineering6040103>
- Maroufizadeh S, *et al.* (2018). The Prevalence of Anxiety and Depression Among People with Infertility Referring to Royan Institute in Tehran, Iran: A Cross-sectional Questionnaire Study. *Middle East Fertil Soc Journal* 23(2).
- Martien, R., Adhyatmika, Irianto, I. D. K., Farida, V., & Sari, D. P. 2012. Technology Developments Nanoparticles as Drug. *Majalah Farmaseutik*, 8(1), 133–144.
- Melodie V, Christine W. (2018). *Fertility and Infertility: Definition and Epidemiology*. Clin Biochem.
- Mescher, A. (2011). *Junqueira's Basic Histology Twelfth Edition*. The McGraw-Hill Companies.
- Muchtaromah, B., Mubdah, A., & Prahardika, B. A. (2018). Effect of Pegagan and Beluntas Combination on Diestrus Length and Proliferation of Vaginal Epithelium on *Rattus norvegicus*. *ICONQUHAS*. <https://doi.org/DOI.10.4108/eai.2-10-2018.2295543>
- Muchtaromah, B., Muti'ah, R., Yusmalasari, D. R., Mardiyana, P., Sharmin, T., & Fadholly, A. (2020). Efficacy of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* extract combination on rat fertility. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 197–203. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.30>
- Muchtaromah, B., Wahyudi, D., Ahmad, M., & Annisa, R. (2020). Nanoparticle characterization of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* as a basic of nanotechnology on Jamu Subur Kandungan Madura. *Pharmacognosy Journal*, 12(5), 1152–1159. <https://doi.org/10.5530/PJ.2020.12.162>
- Muslikah. (2022). *Lara Gendhing Menu Khas Kadilangu Penuh Makna Filosofi*. Pekalongan: Penerbit NEM.
- Nalley, W. M. M., R. Handarini, M. Rizal, R. I. Arifiantini, T. L. Yusuf, dan B. Purwantara. (2011). Penentuan Siklus Estrus Berdasarkan Gambaran Sitologi Vagina dan Profil Hormon pada Rusa Timor. *J. Vet.*12(2): 98-106.
- Ningsi, D. A., Faizah, Z., & Annas, J. Y. (2021). Hubungan Usia Dan Tingkat Stres Dengan Kejadian Infertilitas Di Poli Obgyn RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Indonesian Midwifery and Health Sciences Journal*, 3(2), 179–186. <https://doi.org/10.20473/imhsj.v3i2.2019.179-186>
- 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*.
- Petrovic, M dan Danijela Todorović. (2016). Biochemical and Molecular Mechanisms of Action of Cisplatin in Cancer Cells. *Medicine and Biology* 18(1):12-18.
- Polis CB, *et al.* (2017). Estimating Infertility Prevalence in Low-to-middle-income Countries: An Application of a Current Duration Approach to Demographic and Health Survey Data. *Hum Reprod* 32(5).
- Pradjatmo, H. (2015). Preservasi Fertilitas Pada Penderita Kanker. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 2(3), 182–189.

- Pramasari, N. M. D. (2017). Hubungan *Depo Medroksi Progesterone Acetat* (DMPA) Dengan Ketidakteraturan Siklus Haid Pada Pengguna Akseptor Kb Suntik 3 Bulan di Bpm Nurhasanah Kota Bandar Lampung. *Jurnal Kebidanan*, 3(4), 178-183.
- Puspitadewi, & Sunarno. (2007). Potensi Agensia Anti Fertilitas Biji Tanaman Jarak (*Jatropha Curcas*) Dalam Mempengaruhi Profil Uterus Mencit (*Mus Musculus*) Swiss Webster. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 15(2).
- Rendi, M. H., Muehlenbachs, A., Garcia, R. L., & Boyd, K. L. (2012). Female Reproductive System. In *Comparative Anatomy and Histology* (First Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381361-9.00017-2>
- Sahoo, H.B. *et al.* (2014). Aphrodisiac activity of polyherbal formulation in experimental models on male rats. *Pharm Res.* 4(6), 120-6.
- Sari, D. N., Sumarmin, R., Arsih, F., & Dwi Nugraha, F. A. (2021). Pengaruh ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap pemulihan siklus estrus mencit (*Mus musculus*). *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*, 10(2), 32. <https://doi.org/10.20473/ovz.v10i2.2021.32-38>
- Sekhri, K., Bhanwra, S., & Nandha, R. (2013). Herbal products: a survey of students' perception and knowledge about their medicinal use. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 2(1), 71. <https://doi.org/10.5455/2319-2003.ijbcp20130114>
- Simangunsong, Dewi, Djulia, Elly, Gultom, Tumiur. (2022). *Tumbuhan Penghasil Pestisida Alami di Kawasan Toba*. Medan: Penerbit Yayasan Kita Menulis.
- Simatauw, A. Z., Jems, A., & Unitly, A. (2019). Gambaran Siklus Estrus Tikus *Rattus Norvegicus* Terpapar Asap Rokok Setelah Diterapi Ekstrak Etanol Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch). *Rumphius Pattimura Biological Journal*, 1(1), 1.
- Sitasiwi, A. J., & Mardiaty, S. M. (2016). Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 1 Nomor 1 Agustus 2016 Efek Antifertilitas Ekstrak Air dari Biji Carica papaya terhadap Keteraturan Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L.) Anti-Fertility Effects Of Carica papaya Water Seed Extract on Mice (*Mus musculus*) Oestrous Cycle. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 1(1).
- Srirod, Suthasinee., & Tetrawakul, Supinya. (2019). Anti-inflammatory and wound healing effects of cream containing Curcuma mangga extract. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Stavělková, H. (2018). Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) genetic resources collection – Information. *Horticultural Science*, 35, 130-135.
- Umamaheshwari, N., & Rekha, A. (2018). Sweet flag: (*Acarus calamus*)-An incredible medicinal herb. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 15–22.
- Valizadeh, E., & Seratinouri, H. (2013). Effects of Garlic extraxt, anti-estrogens, and aromatase inhibitor on sex differentiation in embryo. *International Journal of Women's Health and Reproduction Science*, 1 (2), 51-55.
- Van Duursen, M. B. M. (2017). Modulation of estrogen synthesis and metabolism by phytoestrogens: In vitro and the implications for women's health. *Toxicology Research*, 6(6), 772-794.
- World Health Organization. (2020). Infertility. Diakses pada 28 Maret 2023.

- Yuliarfani, N., & Nina. (2022). Pengaruh Pekerjaan, Stres, Obesitas, dan Siklus Menstruasi dengan Kejadian Infertilitas pada Wanita. *JUMANTIK*, 7(1). <https://doi.org/DOI:10.30829/jumantik.v7i1.10541>
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Data Hasil Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Proestrus

1. Data Hasil Perlakuan Lama Fase Proestrus

Proestrus	1	2	3	4	5	6	Rata-rata
K-	12	11	10	11.5	12.5	10.5	11.25
K+	9	7	8.5	7.5	6	5	7.16
P1	15	13	14.5	13.5	15.5	14	14.25
P2	17	17.5	16	15	15.5	16.5	16.25
P3	14	14.5	13	12	13.5	12.5	13.25

2. Hasil Uji Normalitas Lama Fase Proestrus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hasil
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	12.4333
	Std. Deviation	3.29507
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.066
	Negative	-.114
Test Statistic		.114
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

3. Hasil Uji Homogenitas Lama Fase Proestrus

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
hasil	Based on Mean	.727	4	25	.582
	Based on Median	.723	4	25	.585
	Based on Median and with adjusted df	.723	4	18.176	.588
	Based on trimmed mean	.727	4	25	.582

4. Hasil Uji ANOVA Lama Fase Proestrus

ANOVA

hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	286.033	4	71.508	62.001	.000
Within Groups	28.833	25	1.153		
Total	314.867	29			

5. Hasil Uji DMRT Lama Fase Proestrus

DataDuncan^a

proestrus	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
k+	6	7.1667			
k-	6		11.2500		
p3	6			13.2500	
p1	6			14.2500	
p2	6				16.2500
Sig.		1.000	1.000	.119	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 3. Data Hasil Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Estrus

1. Data Hasil Perlakuan Lama Fase Estrus

Estrus	1	2	3	4	5	6	Rata-rata
K-	14.5	14	15	13.5	15.5	16	14.75
K+	11	10	10.5	11.5	9	9.5	10.25
P1	18	18.5	17	17.5	19	18	18
P2	20.5	19.5	20	19	21	19	19.8
P3	16	16.5	15	15.5	14	14.5	15.25

2. Hasil Uji Normalitas Lama Fase Estrus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hasil
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15.6167
	Std. Deviation	3.41317
Most Extreme Differences	Absolute	.091
	Positive	.086
	Negative	-.091
Test Statistic		.091
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

3. Hasil Uji Homogenitas Lama Fase Estrus

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
hasil	Based on Mean	.379	4	25	.821
	Based on Median	.376	4	25	.823
	Based on Median and with adjusted df	.376	4	24.622	.823
	Based on trimmed mean	.379	4	25	.821

4. Hasil Uji ANOVA Lama Fase Estrus

ANOVA

hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	318.883	4	79.721	105.126	.000
Within Groups	18.958	25	.758		
Total	337.842	29			

5. Hasil Uji DMRT Lama Fase Estrus

DataDuncan^a

estrus	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
k+	6	10.2500			
k-	6		14.7500		
p3	6		15.2500		
p1	6			18.0000	
p2	6				19.8333
Sig.		1.000	.330	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 4. Data Hasil Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Metestrus

1. Data Hasil Perlakuan Lama Fase Metestrus

Metestrus	1	2	3	4	5	6	Rata-rata
K-	7	6.5	7	7.5	5	6	6.5
K+	8	8,5	7.5	7	6.5	7	7.41
P1	6.5	7	6	5	5.5	6.5	6.083
P2	5	6.5	5	5.5	5.5	4.5	5.33
P3	6.5	7	6.5	5.5	5	6	6.083

2. Hasil Uji Normalitas Lama Fase Metestrus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hasil
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.3833
	Std. Deviation	.84775
Most Extreme Differences	Absolute	.133
	Positive	.118
	Negative	-.133
Test Statistic		.133
Asymp. Sig. (2-tailed)		.184 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

3. Hasil Uji Homogenitas Lama Fase Metestrus

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
hasil	Based on Mean	.508	4	25	.730
	Based on Median	.439	4	25	.779
	Based on Median and with adjusted df	.439	4	22.188	.779
	Based on trimmed mean	.507	4	25	.731

4. Hasil Uji ANOVA Lama Fase Metestrus

ANOVA

hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.883	4	2.221	4.643	.006
Within Groups	11.958	25	.478		
Total	20.842	29			

5. Hasil Uji DMRT Lama Fase Metestrus

hasilDuncan^a

metestrus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
p2	6	5.3333		
p1	6	6.0833	6.0833	
p3	6	6.0833	6.0833	
k-	6		6.5000	
k+	6			7.4167
Sig.		.118	.380	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 5. Data Hasil Perlakuan dan Hasil Uji Statistik Lama Fase Diestrus

1. Data Hasil Perlakuan Lama Fase Diestrus

Diestrus	1	2	3	4	5	6	Rata-rata
K-	83.4	84.4	85.5	84	84.5	83	84.13
K+	93.6	94	94.5	93	95	94.5	94.1
P1	75.92	76	75.5	74.5	76.3	74.5	75.45
P2	74.4	74.5	75	75.5	74	76	74.9
P3	84	84.5	83.5	83	82	82.5	83.25

2. Hasil Uji Normalitas Lama Fase Diestrus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Standardized
Residual for
hasil

N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000
	Std. Deviation	.92848
Most Extreme Differences	Absolute	.111
	Positive	.104
	Negative	-.111
Test Statistic		.111
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

3. Hasil Uji Homogenitas Lama Fase Diestrus

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
hasil	Based on Mean	.180	4	25	.946
	Based on Median	.155	4	25	.959
	Based on Median and with adjusted df	.155	4	24.116	.959
	Based on trimmed mean	.180	4	25	.946

4. Hasil Uji ANOVA Lama Fase Diestrus

ANOVA

hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1467.198	4	366.800	531.593	.000
Within Groups	17.250	25	.690		
Total	1484.448	29			

5. Hasil Uji DMRT Lama Fase Diestrus

dataDuncan^a

diestrus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
p2	6	74.9000		
p1	6	75.4533		
p3	6		83.2500	
k-	6		84.1333	
k+	6			94.1000
Sig.		.253	.073	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 6. Data Hasil Rata-Rata Perlakuan Selama Siklus Estrus dalam Jam

	Proestrus	Estrus	Metestrus	Diestrus	Total
K-	11.25	14.75	6.5	84.13	116.63
K+	7.16	10.25	7.41	94.1	118.92
P1	14.25	18	6.083	75.45	113.783
P2	16.25	19.83	5.33	74.9	116.28
P3	13.25	15.25	6.083	83.25	117.833

Lampiran 7. Perhitungan Dosis

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

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

- a. Perhitungan dosis 25 mg/kgBB

Berat badan mencit 20 gr

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{Dosis} \times \text{Berat badan mencit}}{1000}$$

$$\text{Perhitungan} = \frac{25 \times 20}{1000} = 0,5 \text{ mg}$$

- b. Perhitungan dosis 50 mg/kgBB

Berat badan mencit 20 gr

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{Dosis} \times \text{Berat badan mencit}}{1000}$$

$$\text{Perhitungan} = \frac{50 \times 20}{1000} = 1 \text{ mg}$$

2. Dosis Perlakuan Pemberian Jamu Subur Kandungan

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

$$4000 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 = 72 \text{ mg/kgBB, dosis dibuat } 75 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{Dosis obat} \times \text{Berat badan mencit}}{1000}$$

$$\text{Perhitungan} = \frac{75 \times 20}{1000} = 1,5 \text{ mg}$$

3. Dosis Cisplatin 5 mg/kgBB

Berat badan mencit 20 gr

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{Dosis} \times \text{Berat badan mencit}}{1000}$$

$$\text{Perhitungan} = \frac{5 \times 20}{1000} = 0,1 \text{ mg}$$

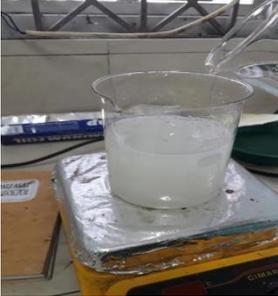
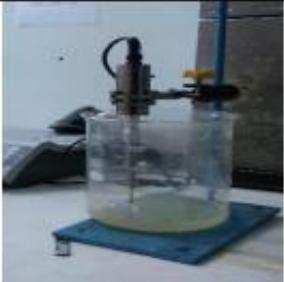
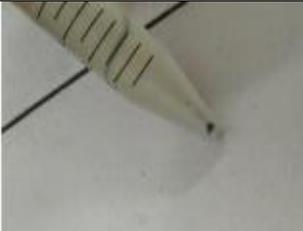
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

1. Tahap ekstraksi

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

2. Pembuatan nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus*

 <p>Penimbangan ekstrak</p>	 <p>Penimbangan kitosan</p>	 <p>Penimbangan STTP</p>
--	--	---

 <p>Homogenasi larutan kitosan-STPP dan penambahan larutan AAG</p>	 <p>Pencampuran ekstrak ke larutan kitosan- STPP- AAG</p>	 <p>Homogenasi menggunakan homogenizer ultra turrax</p>
 <p>Penambahan tween 80</p>	 <p>Sonikasi</p>	 <p>Penuangan larutan pada tabung ependorf 15 ml</p>
 <p>Sentrifugasi</p>	 <p>Pemisahan pellet dengan supernatan</p>	 <p>Hasil pplet nanopartikel</p>
 <p>Hasil pengeringan pellet</p>	 <p>Penumbukan pellet</p>	 <p>Penyaringan serbuk nanopartikel menggunakan ayakan 30 mesh</p>
 <p>Penimbangan serbuk nanopartikel</p>	 <p>Hasil serbuk nanopartikel</p>	 <p>Penyimpanan dalam freezer</p>

3. Proses perlakuan dan pengujian sampel

 <p>Aklimatisasi dan pemeliharaan mencit</p>	 <p>Penimbangan berat badan mencit</p>	 <p>Induksi cisplatin</p>
 <p>Pemberian perlakuan sonde oral</p>	 <p>Proses apus vagina</p>	 <p>Fiksasi preparat apusan vagina dngan methanol 10%</p>
 <p>Pewarnan preparat apusan vagina dengan Giemsa</p>	 <p>Pengamatan lama fase estrus</p>	



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 19620096
Nama : Indy Rizka Tsania
Fakultas : Sains dan Teknologi
Program Studi : Biologi
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag
Judul Laporan : Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* Terhadap Lama Fase Selama Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Cisplatin

IDENTITAS BIMBINGAN

No.	Tanggal	Nama Pembimbing	Deskripsi Konsultasi	Tahun Akademik	Status
1.	4 Oktober 2022	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Penentuan judul skripsi	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
2.	05 Desember 2022	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Bimbingan BAB I	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
3.	20 Desember 2022	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Hasil revisi BAB I	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
4.	14 Maret 2023	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Hasil revisi BAB I	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
5.	05 April 2023	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Bimbingan BAB II & BAB III	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
6.	10 Mei 2023	Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag	Bimbingan integrasi sains BAB I dan BAB II	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
7.	14 Juni 2023	Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag	Hasil revisi integrasi sains di BAB I dan BAB II	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

8.	15 Juni 2023	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Hasil revisi BAB II & BAB III	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
9.	10 Juli 2023	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah. M.Si	Hasil revisi BAB & BAB III serta ACC BAB I-III	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
10.	10 Juli 2023	Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag	Hasil revisi dan ACC integrasi sains	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
11.	29 November 2023	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan BAB IV & V	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
12.	30 November 2023	Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag	Bimbingan integrasi sains BAB IV	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
13.	05 Desember 2023	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	ACC revisi BAB IV&V	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi
14.	05 Desember 2023	Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag	ACC revisi integrasi sains BAB IV	Ganjil 2022/2023	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi

Malang, 05 Desember 2023.....

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 197109192 00032 0 0001

Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag
NIP. 19720420 200212 1 003



Program Studi Biologi

Dr. Erika Endi Savitri, M.P
NIP. 19740118 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id



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

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

Form Checklist Plagiasi

Nama : Indy Rizka Tsania
NIM : 19620096
Judul : Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* Terhadap Lama Fase Selama Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Cisplatin

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	30%	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		



Indy Rizka Tsania,
Kepala Program Studi Biologi

Indy Rizka Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002