



REPUBLIK INDONESIA  
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

# SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202050684, 18 November 2020

**Pencipta**

Nama : **Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si, Mujahidin Ahmad, M.Sc dkk**

Alamat : Perum Pondok Bestari Indah E5/227 Landung Sari, Malang, JAWA TIMUR, 65151

Kewarganegaraan : Indonesia

**Pemegang Hak Cipta**

Nama : **Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si, Mujahidin Ahmad, M.Sc dkk**

Alamat : Perum Pondok Bestari Indah E5/227 Landung Sari, Malang, JAWA TIMUR, 65151

Kewarganegaraan : Indonesia

Jenis Ciptaan : **Karya Tulis (Artikel)**

Judul Ciptaan : **Potensi Nanopartikel Kombinasi Ekstrak Bawang Putih, Temu Mangga Dan Jeringau Terhadap Fertilitas Mencit Betina Model**

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 2 November 2020, di Malang

Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.

Nomor pencatatan : 000219183

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.  
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.  
NIP. 196611181994031001

LAMPIRAN PENCIPTA

No	Nama	Alamat
1	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si	Perum Pondok Bestari Indah E5/227 Landung Sari
2	Mujahidin Ahmad, M.Sc	Jl. Jombang I/64 Gading Kasri Klojen
3	Nur Izzah Analisa	Desa Ketegan Rt.05 Rw.02 Kecamatan Tanggulangin
4	Nurma Helmi Rahayuningtyas, S. Si	Dusun Banjarejo Rt. 01 Rw. 03 Desa Banjarejo Kecamatan Ngadiluwih
5	Indah Muftihatur Rohmah	Desa Sukorejo Rt. 001 Rw. 002 Kecamatan Udanawu

LAMPIRAN PEMEGANG

No	Nama	Alamat
1	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si	Perum Pondok Bestari Indah E5/227 Landung Sari
2	Mujahidin Ahmad, M.Sc	Jl. Jombang I/64 Gading Kasri Klojen
3	Nur Izzah Analisa	Desa Ketegan Rt.05 Rw.02 Kecamatan Tanggulangin
4	Nurma Helmi Rahayuningtyas, S. Si	Dusun Banjarejo Rt. 01 Rw. 03 Desa Banjarejo Kecamatan Ngadiluwih
5	Indah Muftihatur Rohmah	Desa Sukorejo Rt. 001 Rw. 002 Kecamatan Udanawu



# **POTENSI NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK BAWANG PUTIH, TEMU MANGGA DAN JERINGAU TERHADAP FERTILITAS MENCIT BETINA MODEL**

**Bayyinatul Muchtaromah<sup>1</sup>, Mujahidin Ahmad<sup>2</sup>, Nur Izzah Analisa<sup>2</sup>, Nurma Helmi Rahayuningtyas<sup>1</sup> dan Indah Muftihatur Rohmah<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*

*<sup>2</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*

## **Abstrak**

Infertilitas adalah keadaan dimana seseorang gagal mencapai kehamilan setelah bersenggama secara teratur sekurang-kurangnya selama satu tahun tanpa alat kontrasepsi. Infertilitas dapat disebabkan oleh gangguan reproduksi, hormonal dan lain sebagainya. Pengobatan infertilitas dapat menggunakan obat sintetik namun tidak dapat menjamin keberhasilan pengobatan. Obat sintetik umumnya memiliki efek samping yang lebih besar dibandingkan dengan pengobatan tradisional. Pengobatan tradisional menggunakan bahan herbal berpotensi meningkatkan fertilitas seperti bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan Jeringau (*Acorus calamus*). Pengobatan herbal ini memiliki kelarutan yang rendah dan membutuhkan dosis yang lebih besar. Penyalutan menggunakan nanoteknologi sebagai alternatif yang mampu memudahkan penyebaran obat dan memiliki kelarutan yang tinggi. Hasil penelitian ini secara garis besar menunjukkan bahwa nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau berpotensi meningkatkan fertilitas dengan terjadinya pemanjangan fase estrus, meningkatkan kadar esterogen dan progesteron. Dengan demikian, nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau cocok digunakan sebagai pengobatan alternatif sebagai jamu herbal subur kandungan.

**Kata Kunci:** Nanopartikel, Bawang Putih, Temu Mangga, Jeringau, Fertilitas

## **PENDAHULUAN**

Reproduksi merupakan kemampuan makhluk hidup dalam memperbanyak diri dengan bertujuan untuk melestarikan spesiesnya agar tidak punah melalui proses perkawinan (Andriyani, dkk., 2015). Kesehatan reproduksi memiliki peran penting dalam kehidupan, khususnya pada wanita. Hal ini dikarenakan organ reproduksi wanita sangat rentan terhadap penyakit yang dapat menyebabkan gangguan reproduksi. Terdapat beberapa hal yang menyebabkan terganggunya kesehatan reproduksi antara lain infeksi organ reproduksi (vagina, rahim, mulut rahim, saluran

indung telur dan indung telur), gangguan hormon, infertilitas (Nugroho & Utama, 2014).

Infertilitas adalah masalah reproduksi yang sering terjadi pada 1 dari 6 pasangan pria dan wanita di seluruh dunia (Nath & Deb, 2015). Pasangan dikatakan mengalami masalah ketidaksuburan jika mereka tidak mencapai kehamilan selama setahun (Kashani & Akhondzadeh, 2017). Infertilitas pada wanita mencapai 50% dari total kasus yang ditemukan (Hanson, dkk., 2017). Beberapa faktor, seperti perubahan dalam siklus menstruasi, ovulasi, masalah hormonal dapat menyebabkan infertilitas (Kashani & Akhondzadeh, 2017), stres oksidatif (Zhong & Zhou, 2013) dan kelainan bentuk organ reproduksi (Nugroho & Utama, 2014). Namun, 25% penyebab infertilitas masih belum diketahui (Kashani & Akhondzadeh, 2017).

Beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mendeteksi penyebab infertilitas meliputi pemeriksaan fisik (McLaren, 2012), tes darah (untuk mendeteksi kadar hormon) dan laparoskopi (deteksi kelainan organ reproduksi) (Kashani & Akhondzadeh, 2017). Namun demikian cara-cara tersebut tidak menjamin keberhasilan untuk mendapatkan keturunan selain efek samping yang cukup besar (Delosantos, 2012). Oleh karena itu, 80% penduduk dunia saat ini cenderung menggunakan tumbuhan sebagai bahan pengobatan terhadap gangguan reproduksi. Intervensi terapeutik dalam kedokteran modern didasarkan pada pemahaman tentang proses dan mekanisme penyakit sementara penggunaan formula herbal multikomponen didasarkan pada teori, pengalaman praktis dan kepercayaan dari ribuan tahun (Akour, dkk., 2016). Selain itu, penggunaan obat tradisional dari tumbuh-tumbuhan dinilai lebih aman mudah didapat dan relatif murah (Sekhri, dkk., 2007).

Beberapa tumbuhan yang memiliki potensi meningkatkan kesuburan adalah bawang putih (*Allium sativum*), jeringau (*Acorus calamus*), dan temu mangga (*Curcuma mangga*). Ketiga tumbuhan tersebut merupakan penyusun utama jamu subur kandungan asal madura yang berkhasiat mengatasi infertilitas wanita. Selain itu jamu subur kandungan, terbukti mengandung flavonoid, alkaloid dan triterpenoid (Muchtaromah, dkk., 2017) dimana ketiga senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antimikroba dan imunomodulator (Mahmoudi, dkk., 2016).

Kendala yang dihadapi dalam mengkonsumsi jamu adalah dosis yang besar (Ekor, 2014; Zhang, dkk., 2015). Hal ini disebabkan ekstrak tumbuhan memiliki kelarutan yang rendah dalam saluran pencernaan sehingga penyerapan dalam plasma darah rendah (Zhang, dkk., 2013). Salah satu alternatif solusi dari permasalahan tersebut adalah dengan membuat sediaan bawang putih,



jeringau dan temu mangga dalam bentuk nanopartikel dan disalut menggunakan teknologi nano. Penyalutan dengan teknologi nano memudahkan ekstrak terserap dalam plasma darah dan lebih efektif dalam mencapai target sel (Devi, dkk., 2015).

Nanopartikel merupakan koloid padat dengan ukuran 1-1000 nm, yang diformulasikan dengan menggunakan polimer sehingga bahan obat dapat tersalut dan diabsorpsi. Nanopartikel dengan penyalutan kitosan saat ini sedang banyak dikembangkan sebagai media penghantaran obat. Hal ini dikarenakan kelebihan teknologi tersebut diantaranya partikel herbal lebih mudah menyebar dalam sirkulasi darah, pencapain pada target pengobatan lebih akurat dan meningkatkan luas permukaan sehingga kelarutannya meningkat (Purbowatiningrum, dkk., 2017).

Nanopartikel pada umumnya disintesis dengan menggunakan metode gelasi ionik. Metode ini merupakan metode yang sederhana dan hanya membutuhkan bahan-bahan yang sederhana pula. Metode gelasi ionik yaitu metode sambung silang antara polielektrolit dengan pasangan ion multivalennya. Proses tersebut akan diikuti kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Ikatan sambung silang yang terbentuk akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang dihasilkan (Desai & Park, 2005).

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

## **KAJIAN PUSTAKA**

### **Bawang Putih (*Allium sativum*)**

Bawang putih merupakan salah satu sayuran paling penting yang ada dunia dengan total area panen 1.437.690 ha dan produksi tahunan 24.255.303 ton umbi kering (FAO, 2013). Pentingnya bawang putih adalah karena penggunaannya tidak hanya untuk kuliner tetapi juga untuk tujuan terapeutik dan pengobatan, baik pengobatan tradisional maupun modern. Tanaman ini dikonsumsi baik sebagai sayuran mentah atau setelah diproses dalam bentuk minyak, ekstrak dan bubuk bawang putih dengan hasil komposisi kimia dan kandungan senyawa bioaktif yang

berbeda (Lanzotti, dkk., 2014; Martins, dkk., 2016). Pada umumnya, bagian dari bawang putih yang digunakan untuk khasiat obat adalah umbinya, yang tersusun dari beberapa siung, yang dibungkus oleh membran tipis (Bayan, dkk., 2014).

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

Kandungan kimia lain yang terdapat dalam bawang putih adalah fitoesterogen. Fitoesterogen bekerja dengan cara berikatan pada reseptor esterogen yang berperan sebagai pengganti esterogen endogen apabila jumlahnya menurun. Beberapa kandungan fitoesterogen yang ditemukan pada bawang putih di antaranya genistein, secoisolariciresinol, glycitein, formononetin, coumestrol, pinoresinol, lariciresinol, daidzein, dan matairesinol (Thompson, dkk., 2006).

### **Temu Mangga (*Curcuma mangga*)**

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

Rimpang temu mangga merupakan sumber pewarna kuning alami dan secara historis digunakan sebagai rempah-rempah, pengawet makanan, zat penyedap rasa, dan untuk pengobatan berbagai penyakit (Xiang, dkk., 2011). Menurut Larsen dkk (1999), setiap bagian dari spesies tanaman ini dilaporkan dapat dimakan baik mentah atau dimasak sebagai sayuran di berbagai negara di Asia. Temu mangga juga dianggap sebagai produk makanan yang kaya nutrisi, karena tanaman tersebut merupakan tanaman yang kaya akan pati, karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral. Aktivitas farmakologi dari tanaman ini yang telah terbukti antara lain sebagai anti-

inflamasi, antimikroba, hipokolestemik, antirematik, antivirus, antifibrotik, antivenomous, antihepatotoksik, antidiabetik, antinosiseptif, antikanker, dan sifat gastroprotektif (Padalia, dkk., 2013; Policegoudra, dkk., 2010; Rajkumari & Sanatombi, 2018).

Rimpang dan pucuk muda dari temu mangga dapat dikonsumsi mentah dan sebagai perawatan *postpartum*, khususnya untuk membantu penyembuhan rahim yang telah banyak dimanfaatkan di kawasan Asia. Tanaman itu juga digunakan untuk mengobati penyakit kulit seperti bintik merah yang menyebabkan gatal-gatal dan dapat mengurangi panas tubuh yang disebabkan oleh demam terus menerus (Foo, dkk., 2017; Hadem & Sen, 2017; Muchtaromah, dkk., 2017; Yee, dkk., 2015).

Lailiyah (2018) menyatakan bahwa di dalam temu mangga terdapat bahan aktif triterpenoid dan saponin yang dibutuhkan dalam reproduksi khususnya pada proses fertilisasi, yang berfungsi untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal ini dikarenakan terdapat reseptor-reseptor hormon LH-FSH pada sel-sel granulosa. Menurut (Sarjono & Mulyani, 2017) berdasarkan penelitiannya, temu putih memiliki manfaat menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti antikanker, asma, hepatitis, menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah, TBC, dan sinusitis.

### **Jeringau (*Acorus calamus*)**

Jeringau termasuk tumbuhan dari famili Acoraceae merupakan tanaman monokotil yang hidup pada lahan yang basah dengan merambat dan bercabang luas (Mamta & Jyoti, 2012). Jeringau (Acoraceae) atau jeringau merupakan tumbuhan yang berimpang dan aromatis, rimpang berwarna putih dengan kulit berwarna merah muda. Bagian daun tebal dan keras seperti pedang dan apabila dikoyak mampu memberikan aroma yang khas (Widyastuti, dkk., 2019).

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

Kandungan yang dimiliki tumbuhan jeringau antara lain flavanoid, saponin, tanin, protein, kalsium oksalat dan minyak atsiri yang mengandung asaron, parasaron, kalamen, asarilaldehid, sesquiterpen, methyleugenol, kalameon, akorin, eugenol, kalamenol, asam n-heptyl, asam akorik.

Pada rimpang tanaman adalah minyak atsiri berupa 1,2,4- trimetoksi-5-(1-profenil)-benzena atau yang lebih dikenal sebagai asaron (Wahyuni, dkk., 2012). Onasis (2001) memaparkan bahwa komposisi minyak atsiri rimpang jeringau terdiri dari eugenol (0,3%), metal eugenol (1%), kolameone (1%), kolamen (4%), kolemenol (5%), dan asarone (82%).

Asarone yang merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri terdiri dari 2 furan, 8 fenol, 35 senyawa karbonil, 56 alkohol dan 67 hidrokarbon. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa tanaman jeringau terbukti mengandung senyawa aktif sakuranin pada daunnya yang mempunyai efek antihiperlipidemia. Sakuranin ditemukan hampir di seluruh bagian tumbuhan jeringau dan beberapa ekstrak tumbuhan yang mengandung sakuranin ini banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal untuk penderita diabetes. Dilaporkan juga bahwa kandungan flavonoid retusin pada daun jeringau memiliki efek psikoaktif dan jika dicampurkan dalam seduhan teh dapat bermanfaat sebagai analgesik, afrodisiak (perangsang seksual), laksatif, fuguratif, dan antiinflamasi (Pakasi & Christina, 2013).

## **Nanoteknologi**

Nanoteknologi merupakan suatu teknologi yang bertujuan untuk menciptakan ukuran dari suatu sediaan pada rentang ukuran 10 nm-1000 nm. Nanoteknologi mampu menghasilkan suatu sediaan obat herbal pada skala atom dan molekuler sehingga menyebabkan perubahan sifat kimia, biologi dan aktivitas katalitik (Hanutami & Budiman, 2017). Sedangkan menurut Chakraborty, dkk., 2016), nanoteknologi adalah rekayasa dan pembuatan bahan pada tingkat atom dan molekuler. Meskipun terdapat pembatasan ukuran, nanoteknologi biasanya mengacu pada struktur yang ukurannya mencapai beberapa 100 nm. Hal ini merupakan bentuk dari penggunaan dan manipulasi materi pada skala kecil. Nanoteknologi dan studi sains nano telah muncul dengan cepat selama beberapa tahun terakhir di berbagai domain produk. Ini memberikan peluang untuk pengembangan bahan, termasuk yang untuk aplikasi medis, di mana teknik konvensional dapat mencapai batasnya.

## **Nanopartikel**

Nanopartikel memiliki dimensi lebih kecil dari 1  $\mu\text{m}$ . Nanopartikel memiliki sifat yang unik dibandingkan dengan materi yang berukuran besar, hal ini karena adanya penurunan dimensi ke tingkat atom. Nanopartikel dapat memiliki bentuk amorf atau Kristal. Pada tingkat tertentu,



nanopartikel dianggap sebagai materi dengan keadaan yang berbeda, yaitu keadaan padat, cair, gas, dan plasma. Contoh bahan dalam bentuk nanopartikel kristal adalah fullerene dan nanotube karbon, sedangkan bentuk padat kristal adalah grafit dan berlian (Buzea, dkk., 2007).

Nanopartikel umumnya diidentifikasi berdasarkan ukuran, morfologi dan muatan permukaannya, menggunakan teknik mikroskopis canggih seperti pemindaian mikroskop elektron (SEM), mikroskop elektron transmisi (TEM) dan mikroskop kekuatan atom (AFM). Rata-rata diameter partikel, distribusi ukuran dan muatannya mempengaruhi stabilitas fisik dan distribusi *in vivo* dari nanopartikel. Teknik mikroskop elektron sangat berguna dalam memastikan bentuk keseluruhan nanopartikel polimer yang juga dapat menentukan toksisitasnya. Muatan permukaan nanopartikel mempengaruhi stabilitas fisik, redispersibilitas dispersi polimer serta kinerja *in vivo* (Pal, dkk., 2011).

### **Klasifikasi Nanopartikel**

Nanopartikel umumnya diklasifikasikan berdasarkan dimensi, morfologi, komposisi, keseragaman, dan aglomerasi. Berdasarkan morfologi, ada beberapa hal yang harus dipertimbangkan seperti kerataan, kebulatan, dan rasio. Nanopartikel rasio aspek tinggi termasuk nanotube dan kawat nano dengan berbagai bentuk, seperti heliks, zig-zag dan sabuk dengan panjang yang berbeda. Morfologi rasio aspek kecil meliputi bola, oval, kubik, prisma, heliks, atau pilar (Buzea, dkk., 2007). Nanopartikel diklasifikasikan menjadi nanopartikel organik dan anorganik (Divya & Jisha, 2018). Kelompok nanopartikel organik termasuk misel, dendrimer, liposom, hibrida dan nanopartikel polimer kompak. Kelompok nanopartikel anorganik termasuk fullerene, titik kuantum, silika dan nanopartikel emas (Cartaxo, 2018).

Selain di atas, Ada banyak pendekatan lainnya untuk mengklasifikasikan nanopartikel. Nanopartikel diklasifikasikan berdasarkan satu, dua dan tiga dimensi. Sistem satu dimensi antara lain lapisan tipis atau permukaan buatan yang telah digunakan selama puluhan tahun dalam bidang elektronik, kimia, dan teknik. Lapisan tipis ini berukuran 1-100 nm atau monolayer. Sedangkan sistem dua dimensi adalah nanotube karbon (CNTs). Nanotube karbon adalah atom karbon dengan ikatan heksagonal, berdiameter 1 nm dan panjang 100 nm serta lapisan grafit yang digulung menjadi silinder. CNTs terdiri dari dua jenis, yaitu nanotube karbon tunggal (SWCNTs) dan karbon nanotube multisisi (MWCNTs) (Pal, dkk., 2011). Nanopartikel tiga dimensi meliputi fullerene (karbon 60), dendrimer dan titik kuantum. Fullerene adalah sangkar bulat yang

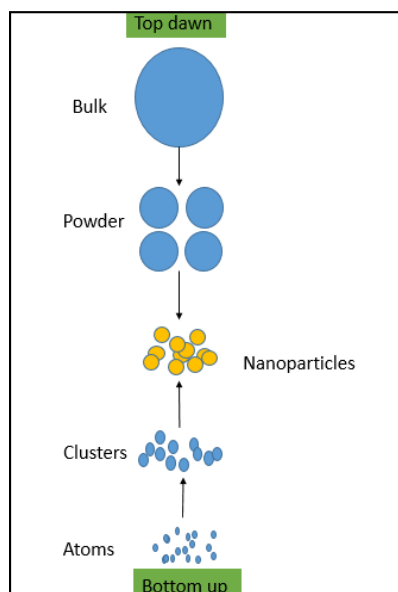
mengandung 28 hingga lebih dari 100 atom karbon, mengandung C<sub>60</sub>. Ini adalah bola yang berlubang yang terdiri atas ikatan karbon pentagonal dan heksagonal, sehingga menyerupai bola. Fullerene tahan terhadap tekanan ekstrem dan dapat kembali ke bentuk aslinya ketika tekanan dilepaskan (Pal, dkk., 2011; Tomalia, 2004).

### **Keuntungan Nanopartikel**

Keuntungan signifikan dari nanopartikel adalah peningkatan bioavailabilitas, proporsionalitas dosis, bentuk ukuran lebih kecil, peningkatan luas permukaan yang menghasilkan penyebaran zat aktif lebih cepat di lingkungan berair, seperti tubuh manusia, bioavailabilitas yang lebih besar, lebih sedikit toksisitas dan mengurangi variabilitas makan / puasa (Pal, dkk., 2011). Karena keuntungan yang luar biasa, nanopartikel mendapat perhatian besar dari para peneliti di bidang multidisiplin ilmu. Nanopartikel dapat digunakan untuk pengiriman obat (Buzea, dkk., 2007; Lee, dkk., 2011), peraba kimia dan biologis (Barrak, dkk., 2019), peraba gas (Mansha, dkk., 2016), penangkapan CO<sub>2</sub> (Khan, dkk., 2019) dan antioksidan. Kemudian dapat pula diaplikasikan dalam bidang bioremediasi, bioelektronik, teknik mesin, kosmetik dan lain - lain (Buzea, dkk., 2007).

### **Sintesis Nanopartikel Tersalut Kitosan**

Nanopartikel disintesis melalui penurunan ukuran menggunakan metode *top-down* seperti penggilingan, homogenisasi tekanan tinggi dan proses sonikasi atau *bottom-up* seperti presipitasi reaktif dan perpindahan pelarut (Divya & Jisha, 2018). Pada metode yang pertama yaitu metode pemecahan (*top-down*), kekuatan eksternal diterapkan pada padatan yang akan dipecah menjadi partikel yang lebih kecil. Yang kedua adalah metode penumpukan (*bottom-up*) yang menghasilkan nanopartikel yang berasal dari gas atom atau cairan berdasarkan transformasi atom atau kondensasi molekuler (Gambar 1) (Horikoshi & Serpone, 2013).



Gambar 1. Metode pembuatan nanopartikel (Usman, dkk., 2019)

Metode *top-down* adalah metode memecah zat padat. Metode ini dapat dibagi menjadi pemecahan kering dan basah. Dalam metode pemecahan kering, zat padat tergilas sebagai hasil dari guncangan, kompresi, atau gesekan. Di sisi lain, pemecahan basah dari substrat padat dilakukan menggunakan pemecahan bantalan jatuh, pemecahan fluida sentrifugal, pemecahan butiran yang mengagitasi, pemecahan butiran saluran derek, dan lain sebagainya. Dibandingkan dengan metode kering, metode basah cocok untuk mencegah kondensasi nanopartikel yang terbentuk dan dengan demikian memungkinkan untuk mendapatkan nanopartikel yang sangat terdispersi. Sedangkan pendekatan metode *bottom-up* secara umum dibagi menjadi metode fase gas dan metode fase cair. Meskipun metode fase gas meminimalkan terjadinya pengotor organik dalam partikel dibandingkan dengan metode fase cair, metode fase gas masih memerlukan penggunaan peralatan vakum yang rumit dengan kerugiannya adalah biaya yang tinggi dan produktivitas yang rendah (Horikoshi & Serpone, 2013).

Nanopartikel dapat dibuat menggunakan metode gelasi ionik, metode gelasi ionik merupakan metode yang sering digunakan peneliti karena proses yang sederhana, tidak memerlukan pelarut organik dan pengontrolan yang mudah. Prinsip kerja dari metode ini adalah metode ini 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 (Abdassah, 2017). Metode gelasi ionik berdasarkan pencampuran polimer yang bersifat polikation dengan polianion. Polimer polikation yang umum digunakan adalah kitosan sedangkan polimer polianion yang umum digunakan adalah tripolifosfat (TPP), zat yang dapat berfungsi sebagai pengikat silang yang baik. Penambahan TPP yang memiliki rapatan muatan negatif tinggi akan meningkatkan kekuatan mekanik gel kitosan (Sreekumar, dkk., 2018).

Berbagai jenis nanopartikel yang dikembangkan untuk aplikasi biomedis dapat dilapisi dengan kitosan. Penambahan larutan kitosan ke dalam formulasi nanopartikel yang disiapkan sebelumnya merupakan cara yang mudah. Larutan kitosan dapat pula ditambahkan selama pembentukan nanopartikel lainnya untuk melapisinya. Di bidang nanoteknologi farmasi, kitosan telah banyak digunakan sebagai polimer pembentuk partikel dan paling inovatif sebagai pelapis permukaan. Nanopartikel polimer, nanopartikel lipid, dan nanopartikel berbasis logam (atau logam oksida) adalah contoh nanopartikel pembawa obat atau zat aktif lainnya yang telah dimodifikasi dengan kitosan di berbagai aplikasi (Frank, dkk., 2019).

### **Potensi Nanopartikel Bawang Putih, Temu Mangga Dan Jeringau Terhadap Fertilitas**

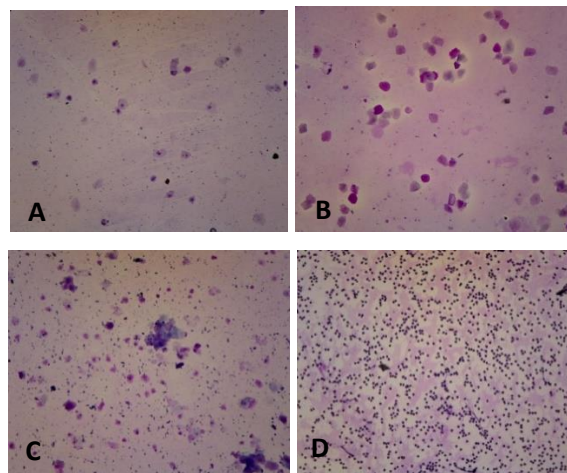
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, nanopartikel bawang putih, temu mangga dan jeringau diketahui berpotensi meningkatkan fertilitas mencit betina model. Pemberian nanopartikel bawang putih, temu mangga dan jeringau pada mencit betina normal dosis 25 mg/kgBB mampu memperpanjang durasi fase estrus. Menurut Sherwood (2018), fase estrus ditandai dengan sekresi hormon estrogen yang semakin meningkat, oleh sebab itu sel epitel vagina berubah menjadi sel kornifikasi. Peningkatan estrogen ini akan menyebabkan peningkatan *Luteinizing Hormone* (LH) yang dapat menyebabkan terjadinya ovulasi, sesaat sebelum ovulasi folikel membesar dan ovum yang ada di dalamnya mengalami pematangan. Paparan konsentrasi estrogen yang tinggi dalam waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya mekanisme umpan balik positif terhadap LH.

Terjadi perpanjangan waktu fase estrus pada pemberian nanopartikel bawang putih, temu mangga dan jeringau dosis 25 mg/kgBB dipengaruhi oleh tingginya konsentrasi estrogen yang berasal dari kandungan nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau tersebut. Pada fase estrus, konsentrasi estrogen meningkat sesuai perkembangan folikel *de Graaf*, apalagi dengan penambahan nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau yang diduga mampu berikatan dengan reseptor estrogen sehingga menyebabkan konsentrasi estrogen

menjadi semakin meningkat dan menyebabkan tanda-tanda estrus tetap dipertahankan. Pemanjangan lama fase estrus memberikan peluang lebih banyak folikel matang dan mensekresi estrogen sehingga betina dapat menerima perkawinan yang lebih frekuen dari hewan jantan (Salisbury, 2001).

Nanopartikel bawang putih, temu mangga dan jeringau dapat diaplikasikan sebagai obat fertilitas karena mempunyai fitoestrogen tinggi yang mampu menggantikan hormon estrogen endogen. Mekanisme kerja ekstrak yang mengandung fitoestrogen adalah melalui mekanisme genomik secara langsung, yaitu fitoestrogen langsung berikatan dengan reseptor estrogen (ER) dan mempengaruhi transkripsi gen, sehingga dapat menimbulkan efek seperti estrogen (efek estrogenik) dan berpengaruh terhadap lama fase estrus (Lusiana, 2017).

Fase siklus estrus mencit pada penelitian kali ini disajikan dalam bentuk gambaran mikroskopis dari sel terkornifikasi, sel epitel berinti dan sel leukosit (Gambar 2). Berdasarkan hasil pengamatan pada empat fase siklus estrus hewan betina model (Gambar 2), terlihat pada fase proestrus adanya dominasi sel-sel epitel berinti, sel tersebut berbentuk oval serta memiliki inti jelas yang berada di tengah. Pada fase estrus terlihat adanya sel kornifikasi (sel tanduk) yang banyak yang muncul secara tunggal atau bertumpuk (berlapis-lapis). Fase metestrus terlihat adanya sel epitel berinti, sel konifikasi, dan leukosit, yang secara kualitatif mendominasi hampir sama banyak. Serta pada fase diestrus terlihat adanya leukosit dalam jumlah banyak dan terdapat sel epitel berinti dalam jumlah yang sedikit.



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan setiap fase pada siklus estrus. Keterangan : A. Proestrus, B. estrus, C. Matestrus, D. Diestrus. perbesaran 100x

Selain berpengaruh terhadap fase estrus, pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau juga berpotensi meningkatkan fertilitas melalui peningkatan kadar hormon esterogen dan progesteron. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dosis 50 mg/kgBB pada mencit betina normal mampu meningkatkan kadar hormon esterogen dan progesteron. Kandungan senyawa fitoestrogen yang terdapat dalam nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dimungkinkan dapat memicu proses sintesis steroid. Mazhar dkk (2020) melaporkan bahwa senyawa isoflavon meningkatkan kadar progesterone pada tikus dengan *polycystic ovarian syndrome*. Fitoestrogen akan mengikat reseptor estrogen (ER) di hipotalamus dan dengan demikian dapat mengubah produksi GnRH sehingga menyebabkan perubahan pada kadar FSH dan LH (Monsees & Opuwar, 2017).

## Kesimpulan

Nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau tersalut kitosan pada penelitian ini secara garis besar berpotensi untuk meningkatkan fertilitas hewan betina model dengan pemanjangan durasi fase estrus, meningkatkan kadar esterogen dan progesteron. Dengan demikian, berdasarkan penelitian ini, nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau tersalut kitosan cocok digunakan sebagai pengobatan alternatif sebagai jamu herbal subur kandungan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. 2017. Nanopartikel dengan Gelasi Ionik. *Farmaka*. 15(1): 45–52.
- Akour, A., Kasabri, V., Afifi, F. U., & Bulatova, N. 2016. The Use of Medicinal Herbs in Gynecological and Pregnancy-Related Disorders by Jordanian Women: A Review of Folkloric Practice Vs. Evidence-Based Pharmacology. *Pharm. Biol.* 54 (9): 1901-18.
- Al Indis, N. 2016. Pengaruh Proses Pengeringan *Curcuma mangga* terhadap Aktivitas Antioksidan yang Diuji Menggunakan Metode DPPH. *Doctoral Dissertation*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Andriyani, R., Triana, A., & Juliarti, W. 2015. *Buku Ajar Biologi Reproduksi dan Perkembangan*. Yogyakarta: Deepublish.
- Barrak, H., Saied, T., Chevallier, P., Laroche, G., M'nif, A. & Hamzaoui, A. H. 2019. Synthesis, Characterization, and Functionalization of ZnO Nanoparticles by N-(trimethoxysilylpropyl) ethylenediamine triacetic acid (TMSEDTA): Investigation of The Interactions between Phloroglucinol and ZnO@TMSEDTA. *Arabian Journal of Chemistry*. 12(8): 4340–4347.
- Bayan, L., Koulivand, P. H. & Gorji, A. 2014. Garlic: A Review of Potential Therapeutic Effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 4(1): 1–14.



- Buzea, C., Pacheco, I. I. & Robbie, K. 2007. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*. 2(4): 17–71.
- Cartaxo, A. 2018. Nanoparticles Types and Properties – Understanding These Promising Devices in The Biomedical Area. *International Journal of Nanomedicine*. pp. 1–8.
- Chakraborty, K., Shivakumar, A., & Ramachandran, S. (2016). Nano-Technology in Herbal Medicines: A Review. *International Journal of Herbal Medicine*. 4(3): 21–27.
- Delosantos, M. R. 2012. The Use of Traditional Chinese Medicine as an Adjunct to Western Fertility Treatments for the Management of Female Infertility. *Theses, Dissertations and Capstone Projects*. USA: A Clinical Graduate Project Submitted to the Faculty of the School of Physician Assistant Studies Pacific University Oregon.
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. 2005. Preparation of Cross-Linked Chitosan Microspheres by Spray Drying: Effect of Cross-Linking Agent on The Properties Of Spray Dried Microspheres. *Journal of Microencapsulation*. 22(4): 377-395.
- Devi, C. S., Tarafder, A., Shishodiya, E. & Mohanasrinivasan, V. 2015. Encapsulation of Staphylokinase and Leucasaspera Plant Extracts Using Chitosan Nanoparticles. *International Journal of PharmTech Research*. 7(4): 654–661.
- Divya, K. & Jisha, M. S. 2018. Chitosan Nanoparticles Preparation and Applications. *Environmental Chemistry Letters*. 16(1): 101–112.
- Ekor, M. 2014. The Growing Use of Herbal Medicines: Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitoring Safety. *Front Pharmacol*. 4: 177.
- FAO. 2013. *Production and Trade Statistics*. Italia: FAO.
- Foo, Y. Y., Periasamy, V., Kiew, L. V., Kumar, G. G. & Malek, S. N. A. 2017. *Curcuma mangga*-mediated Synthesis of Gold Nanoparticles: Characterization, Stability, Cytotoxicity, and Blood Compatibility. *Nanomaterials*. 7(123): 1-15.
- Frank, L. A., Onzi, G. R., Morawski, A. S., Pohlmann, A. R., Guterres, S. S. & Contri, R. V. 2019. Chitosan as A Coating Material for Nanoparticles Intended for Biomedical Applications. *Journal Pre-Proof*. pp. 1–47.
- Hadem, K. L. H. & Sen, A. 2017. Curcuma Species: A Source of Anticancer Drugs. *Journal of Tumor Medicine & Prevention*. 1(5): 135-140.
- Hanson B, Johnstone E, Dorais J, Silver B, Peterson CM and Hotaling J. 2017. Female Infertility, Infertility-Associated Diagnoses, and Comorbidities: A Review. *J. Assist. Reprod. Genet*. 34(2): 167-177.
- Hanutami, B., & Budiman, A. 2017. Penggunaan Teknologi Nano pada Formulasi Obat Herbal. *Farmaka*. 15(2): 29–39.
- Horikoshi, S. & Serpone, N. 2013. Introduction to Nanoparticles. *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications*. pp. 1–24.
- Kashani L., & Akhondzadeh, S. 2017. Female Infertility and Herbal Medicine. *J. Med. Plants*. 16 (61): 12-16.
- Khan, I., Saeed, K. & Khan, I. 2019. Nanoparticles: Properties, Applications and Toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. 12(7): 908–931.
- Kumar, M. 2015. Morphological Characterization of Garlic (*Allium sativum* L.) Germplasm. *Malaysian Journal of Halal Research*. 7(5): 473–474.
- Lailiyah, A. Q. A. I. 2018. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L), Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val) dan Jeringau (*Acorus calamus* L) terhadap Histologi Uterus Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Cisplatin. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Lanzotti, V., Scala, F. & Bonanomi, G. 2014. Compounds from *Allium* Species with Cytotoxic and Antimicrobial Activity. *Phytochemistry Reviews*. 13(4): 769–791.
- Larsen, K., Ibrahim, H., Khaw, S. H. & Saw, L. G. 1999. *Gingers of Peninsular Malaysia and Singapore*. Borneo: Natural History Publications.
- Lee, J. E., Lee, N., Kim, T., Kim, J. & Hyeon, T. 2011. Multifunctional Mesoporous Silica Nanocomposite Nanoparticles for Theranostic Applications. *Accounts of Chemical Research*. 44(10): 893–902.
- Lusiana, N. 2017. Pengaruh Fitoestrogen Daging Buah Kurma Ruthab (*Phoenix dactylifera* L.) terhadap Sinkronisasi Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L.) Betina. *Klorofil*. 1(1): 24-31.
- Mahmoudi, S., Mustapha, K., Abderahim B., Karima, B., & Imen, Bi. 2016. Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Leaf Extracts from Ten Algerian *Ficus carica* L. Varieties. *Asian Paci. J. Trop. Biom.* 6 (3): 239-245.
- Mamta, S., & Jyoti, S. 2012. Phytochemical Screening of *Acorus calamus* and *Lantana camara*. *International Research Journal of Pharmacy*. 3(5): 324-326.
- Mansha, M., Qurashi, A., Ullah, N., Bakare, F. O., Khan, I. & Yamani, Z. H. 2016. Synthesis of In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/graphene Heterostructure and Their Hydrogen Gas Sensing Properties. *Ceramics International*. 42(9): 11490–11495.
- Mardiyana, P. 2017. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) Temu mangga (*Curcuma mangga*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Histologi Uterus dan Tuba Fallopi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Martins, N., Petropoulos, S. & Ferreira, I. C. F. 2016. Chemical Composition and Bioactive Compounds of Garlic (*Allium sativum* L.) as Affected by Pre- and Post-Harvest Conditions: A Review. *Thesis Review*. University Of Thessaly, Nea Ionia, Magnesia, Greece.
- Mazhar, N., Nisa, M. U., & Arshad, M. S. 2020. Phytoestrogenic Effects of Various Levels of Soy Isoflavones in Polycystic Ovarian Syndrome
- McLaren, J. F. 2012. Infertility Evaluation. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 39 (4):453-63.
- Monsees, T. K., & Opuwar, C S. 2017. Effect of Rooibos (*Aspalathus linearis*) on the Female Rat Reproductive Tractand Liver and Kidney Functions *in Vivo*. *South African Journal of Botany*. 110: 208–215
- Muchtaromah, B., Ahmad, M., Sabdoningrum, E. K., Makrifatul, Y., & Azzahra, V. L. 2017. Phytochemicals, Antioxidant and Antifungal Properties of *Acorus calamus*, *Curcuma mangga*, and *Allium sativum*. *KnE Life Sci*. 3(6): 93.
- Nath, S., & Deb, B. 2015. Survey on The Effect of Plant Extract on Reproductive Parameters of Mammals: A review. *Int. J. Pure App. Biosci.* (3): 216-23
- Nugroho, T., & Utama, B. I. 2014. *Masalah Kesehatan Reproduksi Wanita*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Onasis, A. 2001. Pemanfaatan Minyak Jeringau (*Acorus calamus* L) untuk Membunuh Kecoak (*Periplaneta americana*). Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Padalia, R. C., Verma, R. S., Sundaresan, V., Chauhan, A., Chanotiya, C. S. & Yadav, A. 2013. Volatile Terpenoid Compositions of Leaf and Rhizome of *Curcuma amada* Roxb. from Northern India. *Journal of Essential Oil Research*. 25(1): 17–22.
- Pakasi, S. E., & Christina, L. S, 2013. Budidaya yang Baik Tanaman Karumenga (*Acorus calamus*). Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P. & Manavalan, R. 2011. Nanoparticle: An

- Overview of Preparation and Characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 1(6): 228–234.
- Policegoudra, R. S., Rehna, K., Rao, L. J. & Aradhya, S. M. 2010. Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxicity and Platelet Aggregation Inhibitory Activity of A Novel Molecule Isolated and Characterized from Mango Ginger (*Curcuma amada* Roxb.) Rhizome. *Journal of Biosciences*. 35(2): 231–240.
- Purbowatiningrum, N, Ismiyarto, Fachriyah, E., Eviana, I., Eldiana, O. & Sektianingrum, A. N. 2016. Antidiabetic Activity from Garlic Acid Encapsulated Nanochitosan. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 172(1): 1–6.
- Rajkumari, S. & Sanatombi, K. 2018. Nutritional Value, Phytochemical Composition, and Biological Activities of Edible Curcuma Species: A Review. *International Journal of Food Properties*. 20: 2668–2687.
- Salisbury, G. W. 2001. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sarjono, P. R. 2007. Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma mangga* Vall). *Jurnal Sains dan Matematika*. 15(2): 89-93.
- Sekhri, N., Kutzin, J., & Tsaturyan, S. 2007. Voluntary Health Insurance in Armenia: Issues and Options. Health Financing Policy Paper 2007/3. Copenhagen. WHO Regional Office For Europe.
- Sherwood, L. 2018. Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem. Jakarta: EGC.
- Sreekumar, S., Goycoolea, F. M., Moerschbacher, B. M., & Rivera-Rodriguez, G. R. 2018. Parameters Influencing The Size of Chitosan-TPP Nano and Microparticles. *Scientific Reports*. 8(1):1-11.
- Thompson, L. U., Boucher, B. A., Liu, Z., Cotterchio, M., & Kreiger, N. 2006. Phytoestrogen Content of Foods Consumed in Canada, Including Isoflavones, Lignans, and Coumestan. *Nutrition and Cancer*. 54(2): 184-201.
- Tomalia, D. A. 2004. Birth of A New Macromolecular Architecture: Dendrimers as Quantized Building Blocks for Nanoscale Synthetic Organic Chemistry. *Aldrichimica Acta*. 37(2): 39–57.
- Umamaheshwari, N., & Rekha, A. 2018. Sweet Flag : (*Acorus calamus*) -An Incredible Medicinal Herb. *Journal of Pharmacology and Phytochemistry*, 7(6): 15–22.
- Usman, A. I., Aziz, A. A. & Noqta, O. A. 2019. Application of Green Synthesis of Gold Nanoparticles: A Review. *Jurnal Teknologi*. 81(1): 171–182.
- Wahyuni, A., Kadir, A., & Najib, A. 2012. Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Fraksi N-Heksana Daun Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus*). *Jurnal As-Syifaa*. 4(1): 58–64.
- Widyastuti, R., Ratnawati, G., & Saryanto. (2019). Berbagai Penyakit pada Delapan Etnis di Provinsi Aceh (Use of Jerango (*Acorus calamus*) for Various Diseases Treatment in Eight Ethnic in Aceh Province ). *Media Konservasi*. 24(1): 11–19.
- Xiang, Z., Wang, X. Q., Caib, X. J. & Zenga, S. 2011. Metabolomics Study on Quality Control and Discrimination of Three Curcuma Species Based on Gas Chromatograph-Mass Spectrometry. *Phytochemical Analysis*. 22(5): 411–418.
- Yee, F. Y., Periasamy, V. & Malek, S. N. A. 2015. Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Aqueous Ethanol Extract of *Curcuma mangga* Rhizomes as Reducing Agent. *AIP Conference Proceedings*. 1657: 1-8.
- Zhang, J. M., Liao, W., He, Y. X., He, Y., Yan, D., & Fu, C. M. 2013. Study on Intestinal Absorption and Pharmacokinetic Characterization of Diester Diterpenoid Alkaloids in

- Precipitation Derived from Fuzi-Gancao Herb-Pair Decoction for Its Potential Interaction Mechanism Investigation. *J. Ethnopharmacol.* 147 (1): 28-35.
- Zhang, J., Igho, J., Onakpoya, P. P., & Mohamed, E. 2015. The Safety of Herbal Medicine: From Prejudice to Evidence. *Evidence-Based Complem. Altern. Med.* 15(3).
- Zhong, R. Z., & Zhou, D. W. 2013. Oxidative Stress and Role of Natural Plant Derived Antioxidants in Animal Reproduction. *Journal of Integrative Agriculture.* 12(10): 1826-1838.