

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA
(*Solanum nigrum* L.) TERHADAP STRUKTUR HISTOPATOLOGI
TUBULUS SEMINIFERUS TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)**

(Skripsi)

Oleh

**Putri Lestari
2017061004**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA
(*Solanum nigrum* L.) TERHADAP STRUKTUR HISTOPATOLOGI
TUBULUS SEMINIFERUS TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)**

Oleh

Putri Lestari

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) TERHADAP STRUKTUR HISTOPATOLOGI TUBULUS SEMINIFIRUS TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)

Oleh

PUTRI LESTARI

Peningkatan jumlah penduduk yang semakin bertambah menyulitkan pemerataan kesejahteraan masyarakat dalam bidang ekonomi, kesehatan, pendidikan. Salah satu upaya pemerintah dalam menekan kepadatan penduduk yaitu dengan Program Keluarga Berencana (KB), namun program ini masih belum efektif dalam menekan jumlah kepadatan penduduk akibat kurangnya partisipasi pria dalam pelaksanaannya selain itu masih terbatasnya jangkauan pelayanan kontrasepsi bagi pria. Alat kontrasepsi dianggap menimbulkan rasa tidak nyaman saat pemakaian. Oleh karena itu alat kontrasepsi yang aman, mudah digunakan, dan tidak mempengaruhi perilaku seksual sangat diperlukan salah satunya dengan menggunakan sebagai agen antifertilitas. Buah leunca atau *Solanum nigrum* Linn diketahui memiliki kandungan senyawa seperti saponin, tanin, solasodin dan flavonoid yang dapat menjadi agen antifertilitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap jumlah sel spermatogenik antara lain sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatid, dan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap diameter serta tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan mencit jantan sebagai hewan uji. Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan lima kali pengulangan. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 3 mg/gr BB, 6 mg/gr BB, dan 12 mg/gr BB. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS versi 22. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah sel-sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit primer, dan spermatid), diameter serta tebal epitel tubulus seminiferus menurun akibat dari pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang mana hasil paling baik ditunjukkan pada kelompok perlakuan 3 (12 mg/gr BB).

Kata Kunci: Antifertilitas, Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.), Tubulus Seminiferus

ABSTRACT

THE EFFECT OF ADMINISTRATION OF LEUNCA FRUIT (*Solanum nigrum* L.) ETHANOL EXTRACT ON THE HISTOPATHOLOGICAL STRUCTURE OF THE TESTIC SEMINIFIRUS TUBULES OF MICE (*Mus musculus*)

By

PUTRI LESTARI

The increasing population makes it difficult to equalize social welfare in the fields of economics, health and education. One of the government's efforts to reduce population density is the Family Planning (KB) Program, but this program is still not effective in reducing population density due to the lack of male participation in its implementation, in addition to the limited reach of health services for men. Contraceptives are considered to cause discomfort when used. Therefore, contraceptives that are safe, easy to use, and do not affect sexual behavior are very necessary in addition to using them as antifertility agents. Leunca fruit or *Solanum nigrum* Linn is known to contain compounds such as saponins, tannins, solasodine and flavonoids which can be antifertility agents. This study aims to determine the effect of giving ethanol extract of leunca fruit (*Solanum nigrum* L.) on the number of spermatogenic cells including other spermatogonia cells, primary spermatocyte cells, spermatid cells, and to determine the effect of giving ethanol extract of leunca fruit (*Solanum nigrum* L.) on diameter and thick epithelium of mouse seminiferous tubules (*Mus musculus*). This research is experimental using male mice as test animals. The design used was a Completely Randomized Design (CRD) consisting of 3 treatment groups and 1 control group with five repetitions. The doses used in this study were: 3 mg/gr BB, 6 mg/gr BB, and 12 mg/gr BB. The data obtained were then analyzed statistically using SPSS version 22. The results of this study showed that the number of spermatogenic cells (spermatogonia, primary spermatocytes and spermatids), the diameter and thickness of the epithelial layer of the seminiferous tubules decreased due to the administration of leunca fruit (*Solanum nigrum* L.) where the best results were shown in treatment group 3 (12 mg/gr BB).

Keywords: Antifertility, Leunca Fruit (*Solanum nigrum* L.), Seminiferous Tubules

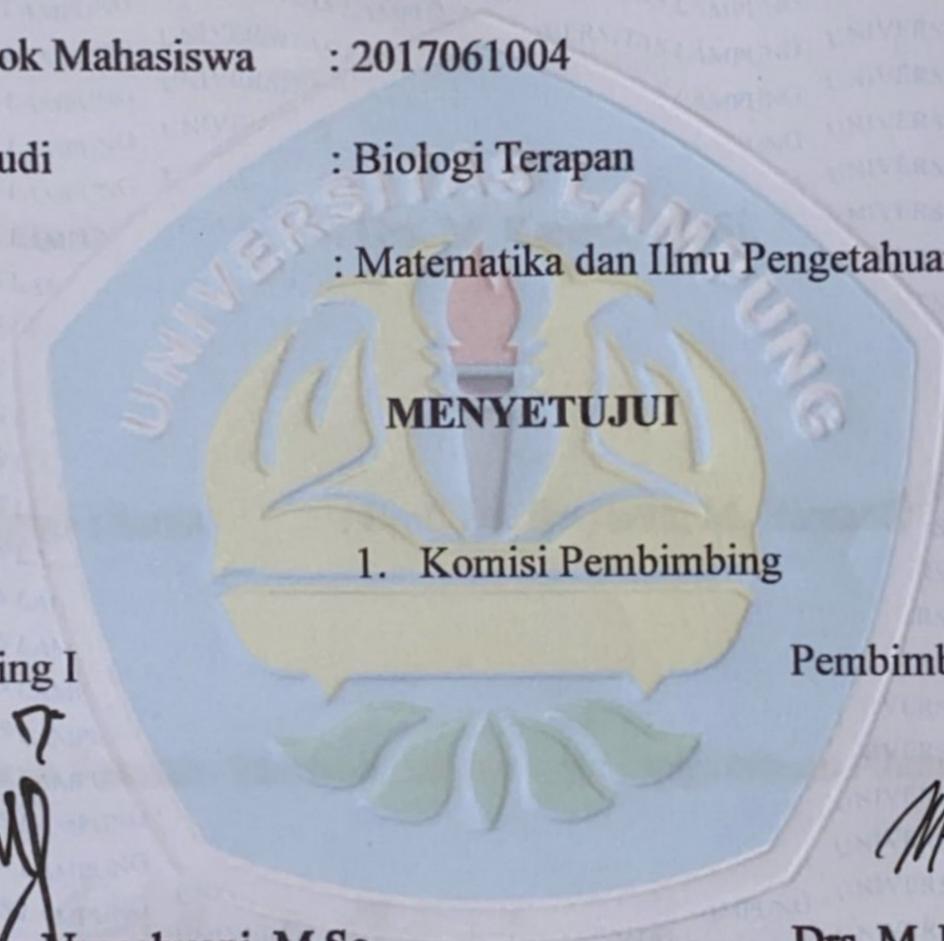
Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) TERHADAP STRUKTUR HISTOPATOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus*).**

Nama Mahasiswa : **Putri Lestari**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2017061004**

Program Studi : **Biologi Terapan**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



Pembimbing I

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001

Pembimbing II

Drs. M. Kanedi, M. Si.
NIP. 196101121991031002

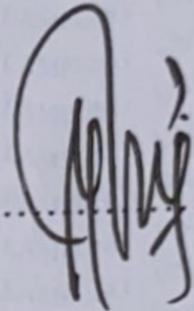
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

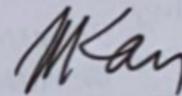
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

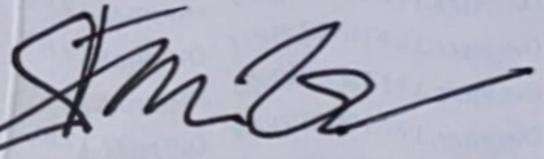
Ketua : Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc.



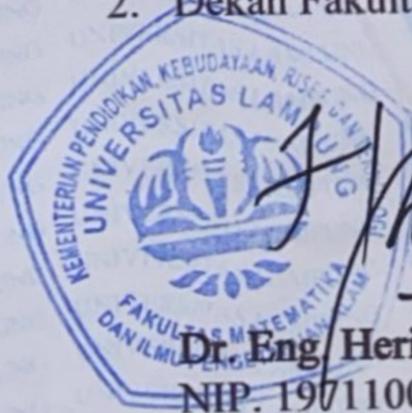
Sekretaris : Drs. M. Kanedi, M. Si.

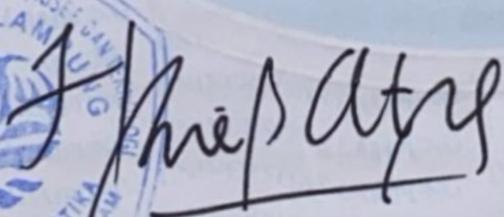


Penguji Utama : Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng Heri Satria, S. Si., M. Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 08 Mei 2024

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Lestari

NPM : 2017061004

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujur-jujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Struktur Histopatologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*)”

Adalah benar merupakan karya saya sendiri, baik gagasan, data, maupun pembahasannya. Karya ilmiah ini adalah hasil dari pengetahuan dan informasi yang saya dapatkan, karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya seseorang.

Dengan demikian karya ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini. Saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandarlampung, 08 Mei 2024



Putri Lestari
NPM. 2017061004

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Lampung Barat, pada tanggal 03 Januari 2002, anak pertama dari pasangan Bapak Agus Riyadi dan Ibu Yuliza. Penulis saat ini beralamat di Perumnas Way Halim, Kecamatan Way Halim, Kota Bandar Lampung.

Penulis memulai pendidikan Sekolah Dasar di SD Al Azhar 1 Bandar Lampung pada tahun 2008, dilanjutkan dengan Sekolah Menengah Pertama di MTsN 2 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2017, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di MAN 1 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2020. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Biologi Terapan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa peneliti aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada tahun 2020. Penulis juga aktif dalam Badan Eksekutif Mahasiswa pada tahun 2021 sebagai staff ahli Administrasi dan Kesejahteraan Mahasiswa, serta aktif berkontribusi sebagai panitia Karya Wisata Ilmiah (KWI) tahun 2021 dan 2022. Selama menjadi mahasiswa penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Keterampilan Kerja Laboratorium, Biosistematika, dan Biomolekuler.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan pada bulan Januari – Februari tahun 2023 di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Veteriner Lampung, dan telah menyelesaikan Laporan Praktik Kerja Lapangan dengan judul “Uji Cemaran Bakteri *Escherichia coli* Pada Sampel Daging Ayam Menggunakan

Metode SNI 289:2008 di Balai Veteriner Lampung”. Kemudian melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Juni-Agustus 2023 di Desa Kuta Dalam, Kecamatan Way Lima, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung.

PERSEMBAHAN

*Bismillahirromanirrohim. Allahuma sholli ala sayyidina
Muhammad, wa'ala ali sayyidina Muhammad.*

*Dengan mengucapkan rasa syukur yang tak terhingga atas berkat
dan rahmat Allah Yang Maha Kuasa, kupersembahkan skripsi ini
yang kukerjakan dengan sepenuh hati ini kepada:*

Kedua Orangtuaku,

Bapak Agus Riyadi dan Ibu Yuliza

*yang cinta dan kasih sayangnya tak terbatas, selalu berusaha
mencukupi kebutuhan, serta tak kenal lelah memberikan nasihat dan
dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
dengan tepat waktu.*

Dosen-dosen pembimbing dan pembahasku,

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., Drs.M. Kanedi, M.Si., dan Prof. Dr.

Sutyarso, M. Biomed *yang dengan sepenuh hati membimbing,
memberikan dukungan mendukung, memberikan saran dan masukan,
serta memfasilitasi segala bentuk rangkaian dan proses dalam
penelitian hingga terciptanya penulisan skripsi ini.*

*Last but not least, I wanna thank me, I wanna thank me for
believing in me, I wanna thank me for doing all these ard work, I
wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for
never quitting, I wanna thank me for always being giver and trying
to give more than I receive. I wanna thank me for trying to do more
right than wrong, I wanna thank me for just being me all time.*

MOTTO

God has perfect timing, never early, never late. It takes a little patience and it takes a lot of faith, but it's a worth the wait

Hatiku tenang karena megetahui bahwa apa yang melewatkanku tidak akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukku tidak akan pernah melewatkanku

-Umar Bin Khatab-

Selalu ada harga dalam sebuah proses nikmati saja lelah-lelah itu. Lebarakan lagi rasa sabar itu. Semua yang kau investasikan untuk menjadikan dirimu serupa yang kau impikan. Mungkin tidak akan selalu berjalan lancar, tapi gelombang gelombang itu yang nanti bisa kau ceritakan

-Boy Chandra-

Sebanyak apapun temanmu, selengkap apapun keluargamu, tidak akan ada yang mengerti struggle dan masa sulit yang kamu hadapi. Berjuanglah untuk diri sendiri, kelak di masa depan kita akan sangat bangga dengan apa yang diperjuangkan hari ini.

-Putri Lestari-

SANWACANA

Alhamdulillahirobbilalamiin,

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, tak lupa sholawat beriring salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya. Semoga kita tergolong umatnya yang mendapat pertolongan di hari akhir kelak.

Skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Stuktur Histopatologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si) di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan karya ini, penulis mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M. Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Univeritas Lampung.
4. Ibu Gina Dania Pratami, S. Si., M. Si. selaku Kepala Program Studi Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung.

5. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku pembimbing utama atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran, dan kritik selama proses pembuatan karya ini
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M. Si. selaku pembimbing kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran, dan kritik selama proses pembuatan karya ini.
7. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed. selaku Penguji Utama pada ujian skripsi yang telah memberikan kritik dan saran yang bersifat membangun, serta membimbing selama penyelesaian karya ini.
8. Bapak Drs. Suratman Umar, M.Sc selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing dari awal penulis memulai perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.
9. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang juga berjasa selama penulis menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.
10. Kedua Orangtua penulis Bapak Agus Riyadi dan Ibu Yuliza yang selalu mendoakan, memberikan kasih sayang, berusaha memenuhi semua kebutuhan penulis, dan dukungan serta motivasi yang diberikan dalam menyusun karya ini
11. Mutiara Anggita, teman seperjuangan ku yang telah banyak membantu, kebersamai, melewati suka duka bersama dalam penelitian, revisi, bimbingan, dan penulisan karya ini.
12. Hudani Nadila, Andriyani Wijaya, Resya Tamara, Nurshella Apherta, Wulan Meri, Muhammad Febriansyah, dan Raden Fadly Bayu terimakasih telah saling memberikan dukungan, semangat, berkembang bersama dan mengukir kenangan manis dan pahit sejak mulai memasuki dunia kampus hingga dapat menyelesaikan perkuliahan di Universitas Lampung.

13. Teman “Cegil” Nabila Farahdhia, Khania Putri, Karissa Amanda yang selalu menemani penulis ketika sedang merasa jenuh, terimakasih telah bersama sama memperbaiki diri menjadi lebih baik.
14. Mauludi dan Yashifa yang setia mendampingi penulis sejak SMA hingga dapat menyelesaikan karya ini
15. Teman teman seperjuangan Biologi angkatan 20, terimakasih atas informasi, bantuan dan masukan yang diberikan kepada penulis, semoga kita semua selalu menjaga silaturahmi serta selalu bertukar kabar.
16. Terakhir kepada seseorang yang pernah bersama penulis, terimakasih untuk patah hati yang pernah diberikan saat proses penyusunan skripsi ini karena telah membuat penulis menjadi lebih semangat dalam menyelesaikan skripsi, terimakasih telah menjadi bagian menyenangkan sekaligus menyakitkan dari proses pendewasaan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, dengan segala keterbatasan pengetahuan dan pengalaman yang masih harus ditingkatkan agar lebih baik lagi kedepannya. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima segala kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang membacanya, secara khusus untuk berbagai pihak yang berkaitan dalam bidang *Science*.

Bandar Lampung, 08 Mei 2024

Penulis,

Putri Lestari

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Manfaat.....	3
1.4 Kerangka Pemikiran	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Leunca (<i>Solanum nigrum</i> L.)	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Leunca (<i>Solanum nigrum</i> L.)	7
2.1.2 Morfologi Tanaman Leunca (<i>Solanum nigrum</i> L.)	7
2.1.3 Kandungan Leunca (<i>Solanum nigrum</i> L.).....	8
2.2 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	9
2.2.1 Klasifikasi Hewan Mencit (<i>Mus musculus</i>)	9
2.2.2 Anatomi Hewan Mencit (<i>Mus musculus</i>)	10
2.2.3 Sistem Reproduksi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	11

2.2.4 Tubulus Seminiferus	12
2.2.5 Bagian Tubulus Seminiferus	15
III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.2 Alat	18
3.2.3 Bahan	19
3.3 Metode.....	19
3.3.1 Rancangan Penelitian	19
3.3.2 Persiapan Hewan Uji.....	20
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Buah Leunca.....	20
3.3.4 Pemberian Perlakuan.....	21
3.3.6 Parameter Penelitian.....	23
3.3.7 Pembuatan Preparat.....	23
3.3.8 Analisis Data Penelitian	28
3.3.9 Diagram Alir.....	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil.....	30
4.1.1 Pengamatan Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>)	30
4.1.2 Jumlah Sel Spermatogenik.....	30
4.1.3 Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>)....	34
4.1.4 Tebal Sel Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>)	35
4.2 Pembahasan	37
4.2.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Leunca Terhadap Sel Spermatogenik.....	37
4.2.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Leunca Terhadap Diameter dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	39
V. SIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Simpulan.....	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel

1. Jumlah Sel Spermatogonia Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	31
2. Jumlah Sel Spermatisit Primer Mencit (<i>Mus musculus</i>)	31
3. Jumlah Sel Spermatid Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	32
4. Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	34
5. Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Solanum nigrum</i> L. (Plantamor, 2023).....	6
2. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	9
3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan (Nugroho, 2018).....	12
4. Tubulus Seminiferus Mencit (Rahmawati, 2018).	14
5. Diagram Alir Penelitian.....	29
6. Sel Spermatogenik Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	33
7. Diameter dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Data Sel Spermogenik.....	49
2. Data Diameter dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	51
3. Olah Data Sel Spermatogonia.	52
4. Olah Data Sel Spermatisit Primer.....	53
5. Olah Data Sel Spermatisid.....	54
6. Olah Data Diameter Tubulus Seminiferus.....	55
7. Olah Data Tebal Epitel Tubulus Seminiferus.....	56

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kepadatan jumlah penduduk menjadi salah satu masalah di negara-negara berkembang termasuk di Indonesia. Peningkatan jumlah penduduk yang semakin bertambah ini dapat menyulitkan pemerataan kesejahteraan masyarakat dalam bidang ekonomi, kesehatan, pendidikan. Berdasarkan hasil sensus penduduk yang dilakukan Badan Pusat Statistik pada tahun 2010 – 2020, jumlah penduduk Indonesia mencapai 270,20 juta jiwa. Sedangkan pada tahun 2000 – 2010 Badan Pusat Statistik mencatat jumlah penduduk Indonesia sebanyak 237,64 juta jiwa. Bertambahnya jumlah penduduk sebesar 1,25% sampai 1,49% tersebut menandakan bahwa setiap tahunnya jumlah penduduk di Indonesia meningkat. Dengan meningkatnya jumlah penduduk di Indonesia, dapat menimbulkan masalah kualitas masyarakat mulai dari meningkatnya jumlah kemiskinan, terjadinya persaingan kerja yang ketat, hingga menurunnya jumlah penduduk yang sehat.

Salah satu upaya pemerintah dalam menekan laju pertumbuhan penduduk adalah dengan Program Keluarga Berencana (KB). Program KB lebih banyak didominasi oleh wanita, sedangkan partisipasi pria masih rendah dalam program tersebut. Kontribusi pria sangat dibutuhkan untuk meningkatkan efektivitas program KB dalam mengurangi pertumbuhan penduduk. Selain kurangnya partisipasi pria dalam program tersebut, masih terbatasnya jangkauan pelayanan kontrasepsi bagi pria.

Penggunaan alat kontrasepsi lain seperti kondom dan vasektomi dianggap dapat menimbulkan rasa tidak nyaman saat pemakaian, serta menimbulkan rasa sakit saat digunakan (invasif), hal ini lah yang menyebabkan kurang berpengaruhnya program KB daam mengurangi jumlah penduduk (sdan Sukarjati, 2016). Oleh sebab itu, alat kontrasepsi yang aman, nyaman dan mudah digunakan, dan tidak mempengaruhi perilaku seksual sangat diperlukan yaitu dengan pemanfaatan tanaman obat sebagai agen antifertilitas.

Solanum nigrum L diduga sebagai salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antifertilitas namun belum terungkap dengan jelas apa yang dapat ditimbulkan jika buah leunca diberikan secara oral dalam bentuk ekstrak. Beberapa senyawa seperti tanin, saponin, solasodin dan flavonoid yang terdapat pada buahnya dapat mempengaruhi proses spermatogenesis, salah satunya yaitu senyawa solasodin yang dapat menekan sekresi hormon reproduksi. Saponin termasuk ke dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis (Iryani, 2019). Berdasarkan penelitian Setia (2012) tentang pengaruh pemberian infusa buah leunca yang juga menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 15% terhadap penurunan jumlah spermatozoa mencit galur swiss webster, didapatkan nilai $p = 0,05$, yang berarti terdapat pengaruh pemberian infusa buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa. Semakin besar konsentrasi, maka semakin besar pula penurunan jumlah spermatozoa.

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan dan pematangan spermatozoa yang mencakup semua peristiwa perubahan spermatogonia menjadi spermatozoa, yang berlangsung di epitel tubulus seminiferus. Hal ini kemudian melatarbelakangi penulis melakukan penelitian mengenai Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Struktur Histopatologi Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus musculus*)

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap jumlah sel spermatogenik mencit (*Mus musculus*).
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap ukuran diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*)
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap ketebalan sel epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*)

1.3 Manfaat

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik dan memperkecil ukuran dari tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*) serta agar dilakukan lebih lanjut mengenai obat kontrasepsi alternatif dengan efek samping yang rendah bagi pria yang dapat menyebabkan infertilitas.

1.4 Kerangka Pemikiran

Tingginya tingkat kepadatan penduduk di Indonesia menyebabkan terjadinya berbagai macam masalah, seperti tingginya tingkat kemiskinan, tingginya tingkat kejahatan, serta rendahnya tingkat pendidikan. Dalam hal ini pemerintah telah mengadakan program Keluarga Berencana (KB) sebagai upaya untuk meningkatkan infertilitas. Infertilitas merupakan gangguan terhadap sistem reproduksi yang ditandai dengan ketidakmampuan untuk mencapai kehamilan setelah 12 bulan atau lebih

berhubungan seksual tanpa pengaman (Hochschild *et al.*, 2009). Saat ini sudah banyak alat kontrasepsi dalam seperti pil, kondom, ataupun vasektomi namun dalam penggunaan alat kontrasepsi ini sering kali menimbulkan dampak negatif dan tidak nyaman bagi penggunanya, maka diperlukan alternatif yang dapat menurunkan fertilitas.

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman flora yang dapat dijadikan tanaman obat sebagai agen antifertilitas, salah satunya buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang memiliki kandungan saponin, flavonoid, alkaloid yang dapat mengganggu proses spermatogenesis. Proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus tergantung pada regulasi hormon reproduksi yaitu *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating Hormone* (FSH). Jika FSH terganggu akan menyebabkan keseimbangan hormonal pada sumbu hipotalamus-hipofisis-testis menjadi tidak stabil. Follicle Stimulating Hormone (FSH) berperan memacu sintesis androgen binding protein pada sertoli. Sekresi LH yang mengalami penurunan mengakibatkan sel Leydig di testis menghasilkan lebih sedikit testosteron. Secara bersamaan FSH dengan testosteron menurunkan rangsangan spermatogenesis pada tubulus seminiferus, akibatnya sperma yang dihasilkan menurun (Sobti, 2008).

Masyarakat Indonesia sering mengkonsumsi buah leunca untuk lalapan ataupun campuran masakan tanpa mengetahui kandungan dari buah leunca tersebut. Belum banyak yang melakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak buah leunca sebagai agen antifertilitas, Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul pengaruh ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap struktur histopatologi tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*).

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian adalah:

1. Pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik mencit (*Mus musculus*)
2. Pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) dapat memperkecil ukuran diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*)
3. Pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) dapat mengurangi ketebalan sel epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*)

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.)

Black nightshades (*Solanum nigrum* L.) atau yang lebih dikenal dengan nama leunca merupakan sayuran indigenous yang berasal dari Amerika Selatan (Siemonsa dan Jensen, 1994). Di beberapa negara seperti Asia, Afrika Selatan, dan Eropa tanaman leunca sudah menyebar termasuk di negara Indonesia khususnya di Pulau Jawa, Sumatera, dan bagian timur Indonesia. Menurut Matasyoh *et al* (2015) leunca merupakan tanaman yang memiliki kemampuan adaptasi hidup yang tinggi, tanaman ini juga termasuk ke dalam golongan semak dengan tinggi sekitar 1.5 m, berakar tunggang putih kecoklatan dan berdaun tunggal dengan bentuk lonjong serta memiliki tipe pertulangan daun menyirip (Poczai dan Hyvonen, 2011). Morfologi tumbuhan leunca dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Solanum nigrum* L. (Plantamor, 2023).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.)

Berdasarkan klasifikasi tanaman leunca (Gambar 1) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Solanum</i>
Spesies	: <i>Solanum nigrum</i> Linn. (Plantamor, 2023)

2.1.2 Morfologi Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.)

Tanaman leunca termasuk ke dalam golongan semak dengan tinggi lebih kurang 1,5 m. Memiliki akar tunggang dengan warna putih kocoklatan. Bentuk batang bulat, tegak, lunak dan berwarna hijau. Berdaun tunggal, lonjong dengan panjang 5 - 7,5 cm dan lebar 2,5 - 3,5 cm. Pangkal dan ujung daun meruncing dengan tepi rata pertulangan daun menyirip. Daun mempunyai tangkai dengan panjang \pm 1 cm dan berwarna hijau. Bunga berupa bunga majemuk dengan mahkota kecil, bangun bintang, berwarna putih, benang sari berwarna kehijaunan dengan jumlah 5 buah. Tangkai bunga berwarna hijau pucat dan berbulu (Ensiklopedia, 2011).

Buah leunca tergolong suku terong terongan yang memiliki rasa pahit namun menyegarkan, berbentuk bulat, berwarna hijau jika masih muda dan berwarna hitam mengkilat jika sudah tua, berbentuk bola dengan garis tengah 8 – 10 mm (Maulana, 2021). Biji berwarna putih,

berbentuk bulat pipih, memiliki bentuk yang relatif kecil, berwarna hijau muda, bertangkai pendek, berwarna kehijauan hingga kecoklatan dan berlendir.

2.1.3 Kandungan Leunca (*Solanum nigrum* L.)

Leunca memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid (Gogoi dan Islam, 2012). Leunca juga mengandung kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A dan C. Leunca (*Solanum nigrum* L.) memiliki banyak manfaat. Di China daun leunca dapat digunakan sebagai obat detoks, diuretik, antihipertensi, antikanker, dan infeksi saluran kemih (Rikenawaty, 2012). Ekstrak daun leunca mempunyai aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH yang poten dengan mekanisme yaitu melindungi kerusakan oksidatif, memperbaiki kerusakan molekul dan membantu melawan penyakit (Jagatheeswari *et al*, 2013). Akar Leunca dapat dijadikan rebusan untuk obat cacangan pada anak di Amerika Utara. Di India seluruh tanaman leunca digunakan sebagai antiseptik dan antidisentri.

Setiap 100 gr buah leunca segar mengandung 90 gr air, 1.9 protein, 0.1 lemak, 7.4 karbohidrat, 274 mg Ca, 34 mg Fe, 0.5 gr protein, 0.1 mg vitamin B1, dan 17 mg vitamin C (Saragih dkk, 2019). Buah leunca (*Solanum nigrum* L.) diketahui memiliki efek antifertilitas, namun belum terungkap dengan jelas apa yang dapat ditimbulkan jika buah leunca diberikan secara oral dalam bentuk ekstrak. Buah leunca mengandung tanin, saponin, solasodin dan flavonoid. Solasodin pada buah leunca tergolong senyawa alkaloida steroid yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis karena dapat menekan sekresi hormon reproduksi. Sedangkan saponin tergolong senyawa steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis (Iryani, 2019). Selain itu buah leunca dapat digunakan untuk mengobati demam,

batuk, sariawan pada mulut dan lidah, serta dapat dijadikan sebagai antifungi (Shamim *et al*, 2004).

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Klasifikasi Hewan Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan klasifikasi hewan mencit (*Mus musculus*) (Gambar 2) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub kelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub famili	: Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus</i> (Nugroho, 2018)



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus*) (Dokumentasi Pribadi).

2.2.2 Anatomi Hewan Mencit (*Mus musculus*)

Mencit adalah hewan yang termasuk ke dalam kelas mamalia. Mencit merupakan salah satu golongan hewan mamalia pengerat yang bersifat omnivorus dan nokturnal. Ciri umum dari mencit yaitu memiliki warna kulit rambut tubuh putih atau keabu-abuan dengan perut sedikit pucat, mata berwarna merah atau hitam (Murwanti dkk, 2004). Mencit memiliki bentuk tubuh yang kecil berwarna putih dengan memiliki siklus estrus yang pendek dan teratur antara 4 – 5 hari. Mencit jantan memiliki berat badan sekitar 18 – 35 gram. Dilihat dari bentuk luarnya, mencit tampak praktis dan efisien untuk penelitian dalam laboratorium yang ruangnya terbatas. Luas permukaan tubuhnya 36 cm² pada berat badan 20 gram. Bobot pada waktu lahir berkisar antara 0,5 – 1,5 gram yang akan meningkat sampai lebih kurang 40 gram pada umur 70 hari atau 2 bulan (Harkness dan Wagner, 1983). Berat badan mencit jantan dewasa berkisar antara 20 – 40 gram dan mencit betina dewasa 25 – 40 gram.

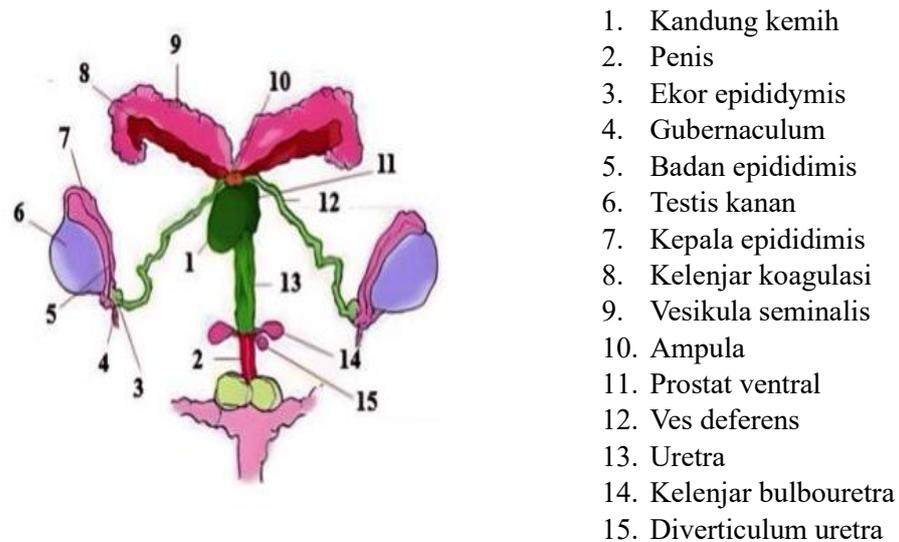
Sebagai hewan pengerat, mencit memiliki gigi seri yang cukup kuat dan gigi seri ini terbuka. Susunan gigi geligi mencit selengkapnya adalah sebagai berikut incisivus $\frac{1}{2}$, caninus $\frac{0}{0}$, premolar $\frac{0}{0}$ dan molar $\frac{3}{3}$ tanpa pergantian gigi. Biasanya mencit dapat hidup selama 1 – 2 tahun dan dewasa pada umur 35 – 60 hari. Sebagai anggota ordo rodentia, mencit mempunyai ciri yaitu memiliki lima jari bercakar, gigi seri pada rahang atas hanya sepasang membentuk seperti pahat tanpa taring, testis abdominal, plasenta tipe discoidal. *Mus musculus* memiliki masa reproduksi 1,5 tahun dengan waktu kehamilannya 19 – 21 hari. Mencit dapat melahirkan 6 – 15 ekor (Akbar, 2010). Berat dewasa mencit rata-rata 18 – 35 gram dan berat lahir 0,5 - 1.0 gram. Suhu rektal mencit 35 – 39 °C dengan pernapasan 140 – 180 kali/menit, dan denyut jantung 600 – 650 kali (Somala, 2006).

2.2.3 Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus*)

Sistem reproduksi pada pria terdiri atas testis, epididimis, kelenjar aksesori, dan penis. Testis terdiri atas lilitan lilitan tubulus seminiferus yang berjumlah 900 lilitan. Setiap tubulus memiliki panjang kurang lebih 0,5 meter (Guyton, 2011). Tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat yang mengandung serabut saraf, pembuluh darah, serta sel interstisial Leydig yang menghasilkan hormon androgen. Ketika pubertas, kelenjar adrenal melepaskan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating hormone* (FSH). LH akan mengaktifkan sel interstisial leydig dan menghasilkan sperma. Sedangkan FSH akan mengaktifkan sel sertoli untuk menghasilkan *adenylate cyclase* melalui perantara cAMP dan akan terbentuk androgen binding-protein (ABP). Testosteron selanjutnya akan berikatan dengan ABP. Ikatan inilah yang akan dikeluarkan ke dalam lumen tubulus seminiferus dan akan meningkatkan spermatogenesis (Gartner dan Hiatt, 2012).

Testis adalah tempat terjadinya pembentukan sperma. Sperma yang telah dihasilkan kemudian disalurkan melalui epididimis menuju vas deferens dan disalurkan menuju duktus ejakulatorius lalu dikeluarkan melalui uretra (Guyton, 2011). Tubulus seminiferus mengandung dua jenis sel yang sangat penting dalam proses pembentukan sperma atau spermatogenesis, yaitu sel germinivatum dan sel sertoli (Sherwood, 2011). Sperma pertama kali dibentuk dari spermatogonia, yang merupakan stem cell. Spermatogonia terdiri dari komponen diploid yang akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa yang motil. Selama proses proliferasi ini, spermatogonia nantinya akan melewati taut erat menuju lumen tubulus. Mulanya, spermatogonia akan mengalami diferensiasi menjadi spermatosit primer yang juga diploid. Selanjutnya spermatosit primer akan mengalami miosis.

Tahap meiosis ini akan terjadi selama dua fase, fase pertama (meiosis I) sperma akan mengalami replikasi DNA dan akan dihasilkan spermatosit sekunder yang haploid. Setiap spermatosit sekunder ini memiliki dua kromatid, yang selanjutnya akan mengalami pemisahan menjadi spermatid pada meiosis II. Tahap akhir pada spermatogenesis adalah spermiogenesis. Pada tahap ini, spermatid yang mulanya berbentuk sferis akan mengalami pemanjangan dan terbentuklah spermatozoa. Selanjutnya, spermatozoa akan memasuki lumen tubulus seminiferus, dengan bantuan cairan yang dihasilkan oleh sel Sertoli. Proses spermatogenesis ini normalnya berlangsung setiap 65 – 75 hari (Tortora and Derrickson, 2009). Sistem reproduksi mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan. (Nugroho, 2018)

2.2.4 Tubulus Seminiferus

Tunica albuginea merupakan lapisan tipis jaringan ikat berserat yang menutupi testis. Lapisan ini membagi bagian dalam testis menjadi sekitar 200 – 300 lobus yang lebih kecil, di mana setiap lobus mengandung satu hingga tiga saluran berpilin yang disebut tubulus

seminiferus. Proses pembentukan sperma terjadi di dalam tubulus seminiferus melalui spermatogenesis (Rizzo, 2010).

Tubulus seminiferus adalah suatu organ berbentuk saluran panjang dan berkelok-kelok yang terdapat dalam lobulus testis. Di dalam tubulus seminiferus inilah terdapat proses perkembangan sel-sel spermatogenik yang membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi untuk menghasilkan spermatozoa. Proses ini disebut dengan spermatogenesis. Sel-sel spermatogenik tersebut tersebar dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus seminiferus. Semakin banyak lapisan sel-sel spermatogenik maka gambaran diameter tubulus seminiferus semakin besar. Sel-sel spermatogenik terdiri atas spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder dan spermatid (Junqueira *et al.*, 1995).

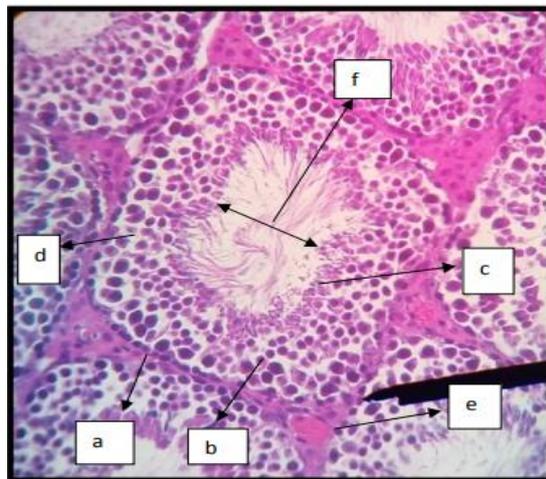
Tubulus seminiferus (Gambar 4) dikelilingi oleh jaringan ikat longgar interstisial dan sel Leydig, di dalam tubulus seminiferus sendiri dilapisi oleh epitel seminiferus yang terdiri dari sel sertoli atau sel penyokong dan sel-sel spermatogenik. Sel turunan spermatogenik membentuk 4 – 8 lapisan konsentris sel yang akan menjadi sperma (Mescher, 2014). Sel punca spermatogenik yang biasa disebut spermatogonia, terletak di sepanjang lamina basalis di tepi tubulus, diselingi antara sel sertoli.

Sel spermatogonia merupakan sel yang terletak dekat dengan membran basal, bentuknya bulat dengan nukleus bulat dan kromatin nukleusnya halus. Sel spermatosit primer berbentuk bulat besar dan letaknya mengarah ke lumen tubulus seminiferus, nukleusnya bulat dengan kromatin yang kasar padat. Sel spermatosit sekunder jarang terlihat karena berukuran pendek. Spermatid merupakan sel berukuran kecil, bulat dan terletak lebih mengarah ke lumen tubulus seminiferus dengan inti sel hampir menutupi seluruh sitoplasmanya.

Spermatozoa biasanya berkelompok dan memenuhi bagian tengah lumen tubulus seminiferus, memiliki flagel sebagai ekor. Sel sertoli

merupakan sel penyokong yang sering terlihat berada diantara spermatogonia, berbentuk mirip segitiga dengan sitoplasma jernih dan sulit dibedakan batas-batasnya. Sel sertoli menangkap sinyal untuk memulai spermatogenesis, regulasi kelenjar hipofisis sebagai umpan balik proses spermatogenesis (Wonodirekso, 2003).

Sel leydig memiliki bentuk iregular, berada diantara tubulus seminiferus dan berfungsi untuk memproduksi hormon testosteron dengan stimulasi *Luteinizing Hormone* (LH) yang berasal dari kelenjar hipofisis anterior. (Varghese *et al.*, 2014). Sel spermatogenik tersusun atas spermatogonia, spermatid, sel Leydig dan sel Sertoli (Eroschenko, 2015).



Gambar 4. Tubulus Seminiferus Mencit a) Sel Spermatogonia, b) Sel Spermatisit, c) Sel Spermatid, d) Sel Sertoli, e) Sel Leydig, f) Lumen tubulus (Rahmawati, 2018).

2.2.5 Bagian Tubulus Seminiferus

1) Sel spermatogenik

Sel spermatogenik berasal dari sel germinal primordial. Sel tersebut adalah sel pada tubulus seminiferus yang bereplikasi dan mengalami maturasi. Hasil akhir dari proses tersebut adalah dihasilkannya sperma yang dewasa. Sel germinal yang imatur memiliki karakteristik:

a. Spermatogonia

Spermatogonia ada tiga jenis yaitu spermatogonia tipe A terang, spermatogonia tipe A gelap, serta spermatogonia tipe B.

Spermatogonia tipe A baik yang terang maupun gelap memiliki persamaan yaitu berbentuk oval dan mempunyai inti yang berbentuk bulat atau lonjong yang melekat pada membran inti (Gartner dan Hiatt, 2012) serta memiliki kromatin yang bergranula halus. Untuk membedakan sel spermatogonia tipe A terang dan tipe A gelap yaitu pada kromatin spermatogonia tipe A terang yang terlihat lebih jelas dari pada spermatogonia tipe A gelap.

b. Spermatisit

Spermatisit dibagi menjadi primer dan sekunder, spermatisit primer terletak mengarah ke permukaan epitel, memiliki bentuk bulat, dengan inti eukromatik (Mescher, 2012) yang lebih terang dibandingkan dengan spermatogonia (Ross dan Pawlina, 2011)

c. Spermatisit sekunder

Spermatisit sekunder memiliki ukuran yang lebih kecil dari pada spermatisit primer dan kromatin intinya kurang padat (Ross dan Pawlina, 2011). Spermatisit sekunder jarang diamati karena umur keberadaannya yang pendek (Mescher, 2012).

d. Spermatid

Spermatid memiliki ukuran yang lebih kecil daripada spermatisit primer maupun spermatisit sekunder. Bentuknya sel maupun intinya bulat, inti menutupi seluruh permukaan sel dan tidak mengandung kromatin (Ross dan Pawlina, 2011).

2) Sel Sertoli

Sel Sertoli merupakan sel penyokong yang terletak pada epitel tubulus seminiferus. Sel ini berbentuk kolumnar, berada di antara sel-sel spermatogenik, serta tidak bereplikasi lagi setelah masa pubertas. Sel Sertoli merupakan sel yang berbatas tidak teratur yang meluas dari membran basalis ke dalam lumen tubulus seminiferus. Sel ini mempunyai inti lonjong atau memanjang dengan kromatin yang jarang dan halus. Sitoplasma berwarna jernih serta memiliki nukleolus yang mencolok (Ross dan Pawlina., 2011).

3) Sel Leydig

Sel leydig terletak di jaringan interstitial dekat pembuluh darah kapiler dan di antara tubulus seminiferus. Sel Leydig letaknya

berkelompok memadat pada daerah segitiga yang terbentuk oleh susunan tubulus seminiferus (Junqueira, 2007). Menurut Dong and Hardy (2004) Sel Leydig memiliki fungsi sumber utama dari hormon androgenik testosteron, yang penting untuk diferensiasi seksual jantan, produksi gamet dan pematangan, dan pengembangan karakteristik seksual sekunder. Pada testis dewasa sel Leydig terbentuk dari perivaskular dan peritubular sel mesenkim, diferensiasi sel ini diinduksi oleh *Luteinizing Hormone*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 sampai dengan bulan Februari 2024 di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum L.*) dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung. Pembuatan dan pengamatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang mencit sebanyak 20 unit dengan penutup berbahan dasar kawat, wadah pakan mencit, botol air minum mencit, sonde lambung yang digunakan untuk pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum L.*), seperangkat alat bedah seperti papan bedah, pinset, *scalple*, pisau bedah, jarum pentul, disposable suntik yang dihubungkan dengan sonde lambung untuk mencekakan ekstrak etanol buah leunca, oven untuk mengeringkan buah leunca, evaporator yang digunakan untuk mengekstrak buah lenca, hot plate, gelas ukur yang digunakan untuk mengukur banyaknya etanol yang

dibutuhkan, tabung reaksi yang digunakan untuk menampung filtrat hasil reaksi, kertas label untuk memberi label pada obyek penelitian, tisu untuk membersihkan sisa zat pada objek gelas, aluminium foil untuk menutup wadah berisi zat, mikrotom, *objec glass* dan *cover glass* untuk pembuatan preparat, mikroskop binokuler dan trinokuler yang digunakan untuk pengamatan preparat histologi, kamera handphone yang digunakan untuk mendokumentasi penelitian, alat tulis untuk mencatat data hasil penelitian, laptop yang digunakan untuk mengolah data penelitian.

3.2.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 20 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 3 – 4 bulan dengan berat 30 – 40 gram yang diperoleh dari Mice Breeder “Berkah Mencit Lampung”, 5 kg buah leunca yang diperoleh dari Pasar Jatimulyo, Kabupaten Lampung Selatan, etanol merk Prime Grade Ethyl Alcohol, sekam padi yang diperoleh dari Tanaman Hias, Kayu Manis digunakan untuk alas litter kandang mencit, pakan mencit merk BR 2 untuk pakan mencit, air mineral merk Grand untuk minum mencit, NaCl 0,9% yang diproduksi oleh PT Otsuka Indonesia yang digunakan untuk sterilisasi, kloroform merk MSURE sebagai obat bius mencit, aquabidest merk Onemed sebagai pelarut ekstrak etanol buah leunca, *hematoxylin* eosin yang digunakan untuk pewarna preparat, dan parafin.

3.3 Metode

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada proses perlakuan dilakukan

secara acak dengan 4 perlakuan dan 5 pengulangan. Jumlah perlakuan dan pengulangan berdasarkan rumus Federer (1991), yaitu $t(n-1) \geq 15$.

Perlakuan (t) :

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

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

Satuan percobaan $4 \times 5 = 20$ mencit jantan yang homogen.

3.3.2 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan dengan berat badan sekitar 30 – 40 gram berumur 3 – 4 bulan. Sebelum dilakukan penelitian, kandang dipersiapkan terlebih dahulu kemudian dibersihkan dan diberi alas sekam padi beserta penutup kandang. Mencit diaklimatisasi di kandang mencit FMIPA Universitas Lampung selama 1 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitar, kemudian mencit diberi makan dan minum dengan pellet merk BR 2 dan air mineral merk Grand, setelah ini dilakukan pengamatan kondisi umum mencit serta ditimbang berat badannya setiap harinya.

3.3.3 Pembuatan Ekstrak Buah Leunca

Pada penelitian ini untuk mendapatkan ekstrak etanol buah leunca menggunakan metode maserasi. Buah leunca yang digunakan sebanyak 5 kg yang diperoleh dari Pasar Jatimulyo, Kabupaten Lampung Selatan. Kriteria dari buah leunca yang digunakan yaitu masih muda dan berwarna hijau, pemilihan buah leunca yang masih muda ini karena lebih tingginya kandungan metabolit sekunder

dibandingkan dengan buah leunca yang sudah matang (Khan, 2016). Buah leunca dibersihkan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari untuk mengurangi kadar air dan ditutup menggunakan kain hitam untuk mengurangi residu pada buah. Setelah itu didapatkan simplisia kering sebanyak 330 gr lalu dihaluskan menggunakan mesin penggilingan. Kemudian bubuk simplisia yang diperoleh sebanyak 280 gr dimaserasi dengan cara direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 3000 mL selama 3 hari dan ditutup menggunakan pollybag agar kandungan senyawa tidak rusak dan diaduk setiap 8 jam sekali. Setelah itu campuran etanol dan simplisia buah leunca disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan maserat pertama. Ampas dari maserat pertama direndam kembali dengan 1000 mL etanol selama 2 hari kemudian disaring dan didapatkan maserat kedua. Maserat pertama dan kedua disimpan selama semalam lalu dipisahkan dari residunya. Kemudian dipisahkan dengan evaporator pada suhu 50°C dan dipisahkan kembali menggunakan *hot plate* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 75gr

3.3.4 Pemberian Perlakuan

Sebelum diberikan perlakuan, mencit ditimbang terlebih dahulu, Kemudian, diberikan ekstrak etanol buah leunca yang dilakukan sehari sekali pada pagi hari sebelum mencit diberikan pakan, pemberian ekstrak etanol buah leunca dilakukan dengan cara dicekok (secara oral) menggunakan sonde menyesuaikan volume suspensi dengan berat badan yang sesuai dengan siklus spermatogenik mencit (Rugh, 1968). Pada penelitian ini menggunakan mencit Jantan yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

Menurut Iryani (2019) dosis ekstrak buah leunca yang diberikan pada hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley dengan berat 150 – 300 gram, yaitu sebagai berikut:

1. Kelompok 1 : Larutan akuades 1 mL / kg BB (kontrol)
2. Kelompok 2 : 1 mL ekstrak buah leunca dengan dosis 100 mg / kg BB
3. Kelompok 3 : 1 mL ekstrak buah leunca dengan dosis 200 mg / kg BB
4. Kelompok 4 : 1 mL ekstrak buah leunca dengan dosis 400 mg / kg BB

Hewan uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah mencit jantan dengan berat badan 30 gram. Persentase yang digunakan menurut Yorijuly (2012) yaitu 1%. sehingga rumus perhitungan volume penggunaan aquabides adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 \text{Volume Pemberian Aquabides} &= \text{Berat} \times \text{Persen Pemberian} \\
 &= 30 \text{ gram} \times 1\% \\
 &= 30 \text{ gram} \times (1 \text{ ml} / 100 \text{ gram}) \\
 &= 0,3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Sehingga dosis ekstrak etanol leunca yang digunakan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Kelompok 1 (K) : diberi larutan akuabidest 0,3 ml
2. Kelompok 2 (P1) : diberi 0,3 mL ekstrak buah leunca dengan dosis 3 mg / 30 gr BB
3. Kelompok 3 (P2) : diberi 0,3 mL ekstrak buah leunca dengan dosis 6 mg / 30 gr BB
4. Kelompok 4 (P4) : diberi 0,3 mL ekstrak buah leunca dengan dosis 12 mg / 30 gr BB

3.3.5 Pembedahan

Setelah mencit diberi perlakuan selama 35 hari kemudian dilakukan pembedahan. Pertama mencit dibius terlebih dahulu menggunakan kloroform kemudian spesimen dibuka perutnya untuk diambil testisnya. Suspensi dibersihkan terlebih dahulu menggunakan NaCl 0,9%. Testis yang telah dipotong difiksasi dengan buffer formalin 10% di dalam botol kemudian testis dibawa ke Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung untuk dibuat preparat histologi dengan metode paraffin. Pembuatan Preparat tubulus seminiferus menggunakan organ testis yang disayat dengan irisan melintang.

3.3.6 Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1. Jumlah sel spermatogenik (sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan spermatid).
2. Diameter tubulus seminiferus.
3. Tebal epitel tubulus seminiferus.

3.3.7 Pembuatan Preparat

Proses pembuatan preparat histologi terdiri dari beberapa tahapan yaitu tahap fiksasi, tahap dehidrasi, tahap embedding, tahap pemotongan (*cutting*), tahap pewarnaan (*staining*), dan tahap perekatan (*mounting*).

3.3.7.1 Teknik Pembuatan Slide

a. Tahap Fiksasi

Fiksasi merupakan tahap awal yang dilakukan dalam pembuatan preparat histologi. Tahap fiksasi ini bertujuan untuk mengeraskan dan mematkan jaringan secara cepat, sehingga jaringan tidak mengalami pembusukan (*autolisis*). Organ testis yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam larutan fiksatif formalin 10%. Fiksasi dilakukan minimal selama 24 jam. Kemudian setelah difiksasi organ testis dicuci dengan air mengalir (Mujimin dan Suratmi, 2013).

b. Tahap Dehidrasi, Penjernihan, dan Impregnasi

Proses dehidrasi dimulai dengan proses trimming atau memotong organ testis menjadi ukuran yang lebih kecil dan dimasukkan ke dalam embedding cassette, setelah itu dicuci dengan air mengalir. *Embedding cassette* kemudian diletakkan di atas kertas tissue. Kemudian dilakukan perendaman menggunakan alkohol bertingkat pada konsentrasi 80% dan 90% berturut turut selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan perendaman dalam alkohol 95%, alkohol absolute I, II, III selama 1 jam. Tahap berikutnya yaitu clearing untuk membersihkan sisa-sisa alkohol dengan merendam *embedding cassette* dalam larutan *xylol* I, II, dan III masing masing selama 1 jam. Impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin I, II, dan III masing-masing selama 2 jam.

c. Tahap Embedding

Setelah melalui proses dehidrasi, maka jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam base mold, kemudian diisi dengan parafin cair, yang selanjutnya dilekatkan pada balok kayu ukuran 3 x 3 cm.

d. Tahap Pemotongan (*Cutting*)

Proses *cutting* dilakukan dalam ruangan dingin. Blok terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan diawali dengan pemotongan kasar yang selanjutnya dilakukan pemotongan halus dengan ketebalan 10 mikron. Setelah dipotong, dipilih lembaran potongan yang paling baik, kemudian diapungkan di air. Dipindahkan lembaran jaringan ke dalam *water bath* selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Selanjutnya ditempatkan jaringan pada *slide* bersih dengan cara disendok lembaran jaringan tersebut ke dalam *water bath*. Setelah itu, *slide* ditempatkan pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna (Damayanti, 2023).

e. Tahap Pewarnaan (*Staining*)

Staining atau pewarnaan dimulai dengan perendaman dalam larutan *xylol* I, II, III, masing-masing selama 5 menit dilanjutkan dengan perendaman dalam alkohol *absolute* I, II, III masing-masing selama 5 menit. Perendaman selanjutnya yaitu menggunakan aquades selama 1 menit. Hasil potongan organ kemudian

dimasukkan ke dalam larutan pewarnaan *Harris Hematoxylin Eosin* (HE) selama 20 menit. *Slide* jaringan dimasukkan ke dalam aquades selama 1 menit dengan sedikit menggoyang-goyangkan organ agar merata. *Slide* jaringan dicelupkan dalam asam alkohol sebanyak 2 – 3 celupan, lalu dibersihkan dalam aquades bertingkat masing-masing 15 menit, dimasukkan dalam eosin selama 2 menit dan berturut-turut dimasukkan dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 96%, alkohol III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir, *slide* jaringan dimasukkan ke dalam xylol IV dan V masing-masing selama 5 menit (Mitasari, 2022).

f. Tahap Perekatan (*Mounting*)

Penetesan bahan mounting dilakukan dengan menggunakan entellan yang ditutup dengan *coverglass*, kemudian dilangkan gelembung udara agar mempermudah dalam pengamatan.

3.3.7.2 Pengamatan Preparat

a. Pengamatan Sel Spermatogonia Spermatisit primer, dan Spermatid

Pengamatan sel spermatogonia, sel spermatisit primer, dan sel spermatid dilakukan pada potongan melintang tubulus seminiferus yang diambil secara random. Perhitungan sel spermatogenik (spermatogonia, spermatisit dan spermatid) dilakukan dengan cara menghitung satu persatu sel spermatogenik sampai

mengitari tubulus seminiferus (Kusumaningrum, 2008). Pengamatan sel spermatogenik menggunakan mikroskop binokuler *Nikon Eclipse* pada perbesaran 400x dan perhitungan jumlah sel menggunakan *cell counter*.

b. Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus

Pengukuran diameter tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikroskop trinokuler *Nikon Eclipse* perbesaran 200x dan aplikasi *Nis* versi 4.40 yaitu dengan mengukur antara dua titik yang berseberangan pada garis tengahnya, titik tersebut berada pada membran basalis tubulus seminiferus. Tubulus yang dipilih adalah tubulus yang memiliki penampang bulat dengan ukuran yang kurang lebih sama. Hasil dari diameter tubulus seminiferus dinyatakan dalam satuan mikrometer (μm) (Khakpour *et al.*, 2012)

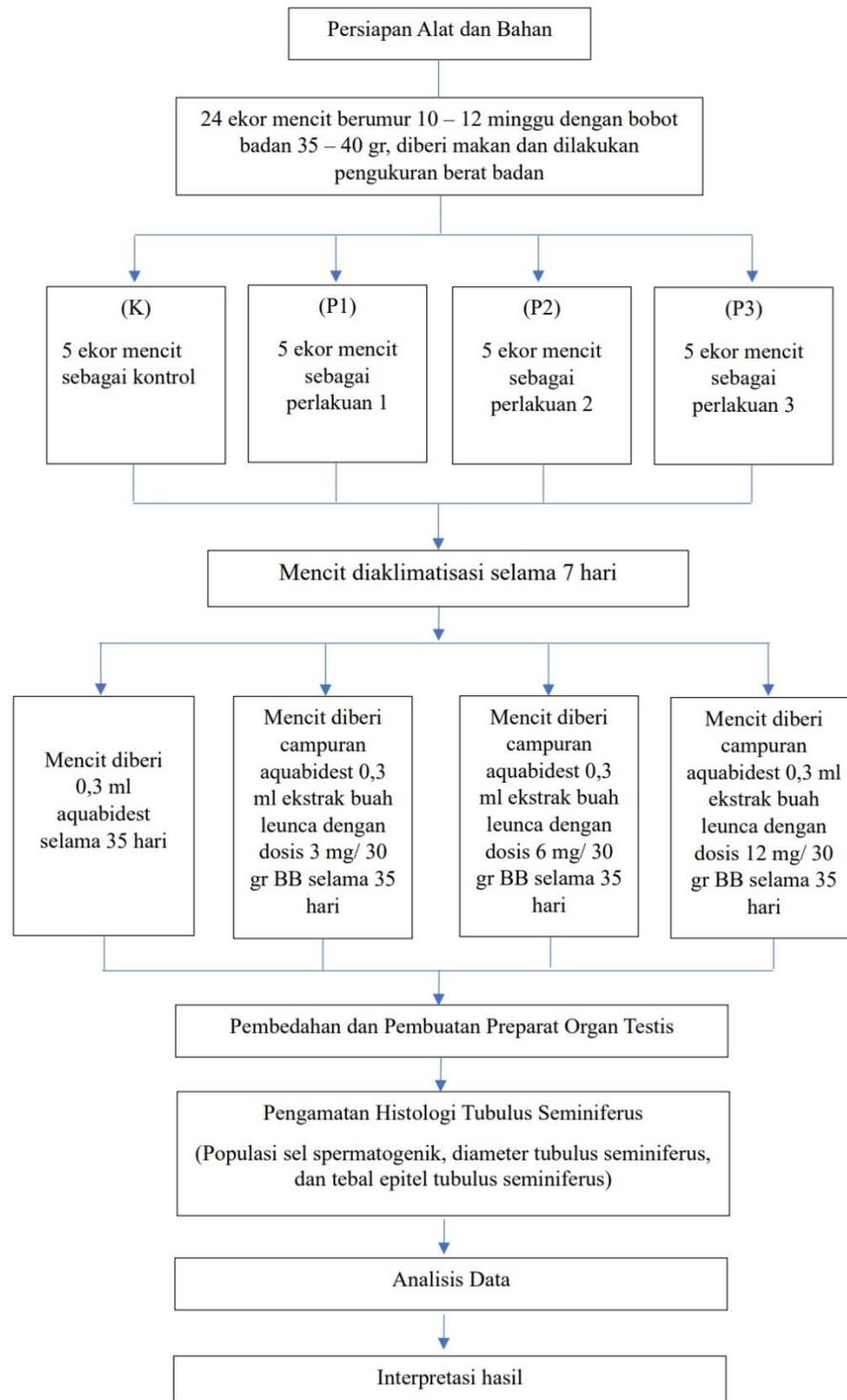
c. Pengamatan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus

Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikroskop trinokuler *Nikon Eclipse* perbesaran 200x dan aplikasi *Nis* versi 4.40. Tebal epitel tubulus seminiferus diukur dengan cara menarik garis dari jarak terdekat pada batas antara lapisan sel spermatogonia hingga permukaan lumen setiap tubulus seminiferus (Purwoistri, 2010). Hasil dari tebal epitel tubulus seminiferus dinyatakan dalam satuan mikrometer (μm).

3.3.8 Analisis Data Penelitian

Data yang diperoleh pada penelitian ini bersifat kuantitatif kemudian data dianalisis secara statistik menggunakan SPSS versi 22. Pertama data yang diperoleh diuji normalitas dengan uji Shapiro wilk, jika data sudah normal maka dilanjut menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perlakuan yang paling efektif dengan $P < \alpha 0.05$.

3.3.9 Diagram Alir



Gambar 5. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) secara oral terhadap mencit (*Mus musculus*) mengakibatkan:

1. Penurunan jumlah sel spermatogenik yaitu spermatogonia dan spermatisit primer dengan dosis 3 mg/grBB, 6 mg/grBB, dan 12 mg/grBB.
2. Penurunan ukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok P1 dengan rata rata 102, 68 μm , dan kelompok P3 dengan rata rata 101,88 μm
3. Penurunan ketebalan sel epitel tubulus seminiferus seiring dengan bertambahnya dosis yang diberikan, yaitu pada kelompok kontrol didapatkan dengan rata rata tebal epitel 26,94 μm , kelompok P1 didapatkan rata rata 26,42 μm , kelompok P2 didapatkan rata rata 22,78 μm , dan kelompok P3 didapatkan rata rata 21,02 μm .

5.2 Saran

Adapun saran-saran yang dapat dikemukakan berdasarkan hasil penelitian adalah sebagai berikut :

1. Diharapkan hasil penelitian ini mampu menjadi referensi pada penelitian selanjutnya, dengan mempertimbangkan dosis yang sudah digunakan yaitu 3 mg/grBB, 6 mg/grBB, dan 12 mg/grBB.
2. Disarankan meneliti lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap kerusakan histologi pada organ lain seperti hepar atau ginjal.
3. Disarankan meneliti lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan kualitas folikel jika menggunakan mencit betina atau menggunakan hewan ui lain seperti kelinci.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Setelah Perlakuan Dengan Boraks. *Bioscientiae Jurnal*. Volume 1 (2). 1-9.
- Cholifah, S., Arsyad, dan Salni. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica charantia* L) Terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) *Spraque Dawley*. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*. 46(2). 149–157.
- Damayanti, A.F. 2023. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* Linn.) Yang Dinduksi D-Galaktosa Akibat Pemberian Tinta Cumi Cumi (*Loligo sp.*) Sebagai Faktor Anti Aging. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ensiklopedia. 2011. Leunca (*Solanum nigrum* L.). Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi.
<https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/ensiklopedia/ensiklopedia-tanaman-antikanker/l/leunca-solanum-nigrum-l/> diakses pada 9 Oktober 2023.
- Eroschenko, V.P. 2015. Atlas Histologi Difiore Dengan Korelasi Fungsional. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd Edition. Marcel Dekker, New York.
- Gartner, L. P., and Hiatt, J. L. 2012. *Atlas Berwarna Histologi.*, Edisi ke-5. Binarupa Aksara, 374-375. Tangerang Selatan.
- Gerad, J. Tortora., Derrickson, B. 2012. Principles of Anatomy and Physiology. *Biological Science Textbooks*. 13. 1149-1150.

- Gogoi, P., M. Islam. 2012. Phytochemical Screening of *Solanum nigrum* L and *S. Myriacanthus*. *Journal from districts of upper assam*. 2:455-459.
- Gulkesen, K.H., Erdogru, T., Sargin, C.F., Karpuzoglu, G., 2002, Expression of Extracellular Matrix Proteins and Vimentin in Testes of Azoospermic Man: an Immunohistochemical and Morphometric Study, *Asian Journal of Andrology*. 4(1):55-60.
- Guyton, A. C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian I*. ECG Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Hariana HA. 2006. Leunca (*solanum nigrum* l.). Dalam: tumbuhan obat berkhasiatnya seri agrisehat. Cetakan kedua, seri kedua. Jakarta: penebar swadaya
- Harkness, J. E., & Wagner, J. E. 1983. *Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*. Philadelphia: Lea and Fabriger.
- Hasanah, W.I., 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Spermatogenesis Mencit (*Mus Musculus* L.). Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Hasanah, W. dan Sukarjati., 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dan Campuran Ekstrak Biji Pepaya dan Ekstrak Daun Mimba Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*). *Wahana Tridarma Perguruan Tinggi*. 67(2). 59–68.
- Hochschild, F. Z., Adamson, G. D., Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K. 2009. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and The World Health Organization (WHO) Revised Glossary of ART Terminology. *Human reproduction*. 92(5): 1520-4.
- Iryani, T. 2019. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Secara Oral Terhadap Penurunan Jumlah Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). *Medical Profession Journal of Lampung*. 99-101
- Jagatheeswari, D., Bharathi, T., and Ali, S.J. 2013. Black Night Shade (*Solanum nigrum* L.). *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 4 (2). 288-295.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J and Kelly, R. O. 1995. *Basic Histology. 8 th edition*. Stamford Connecticut. Appleton and Lange.

- Junqueira LC, Carneiro J. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Khan, H. J. 2016. Identification of Anticancer and Antioxidant phytoconstituents from chloroform fraction of *Solanum nigrum* L. *Indian journal of experimental biology*. 54 (11). 774–82.
- Kusumaningrum, E. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L) Terhadap Spermatogenesis Mencit*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya. Surabaya
- Khakpour, S., Minaee, M., Fazelpour, S., and Zarrabian, S. 2012. Effects of Citrus Aurantium Extract on Spermatogenic Cell Density , Antioxidant Activity and Testosterone Level in Male Mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 6 (7). 480 – 486.
- Kierszenbaum, A.L., and Tres, L.L. 2012. *Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology 3th Ed*. Elsevier Saunders.
- Lanning, L.L., Creasy, D.M., Chappin, R.M., Mann, P.C., Barlow, N.J., Regan, K.S., and Goodman, D.G. 2002. Recommended Approaches for the Evaluation of Testicular and Epididymal Toxicity. *Toxicologic Pathology*. 30(4), 507-520
- Ma, Y., Zheng, H.Y., Mei, L.X., Ran, Y. H., Li, H.D., Xiao-Nan, K. 2015. *Testosterone Regulates the Autophagic Clearance of Androgen Binding Protein in Rat Sertoli Cells*. 5 (8894): 1-6.
- Matasyoh, L.G., S. Abel, H. Budhan, E. Klocke. 2015. Charaterization of The *Solanum nigrum* Complex of Kenya by AFLP Markers. *International Journal of Agricultural Science and Technology*. 3 (1). 62-69.
- Matsumoto, A.M., and Bremner, W.J. 2016. *Chapter 19-Testicular Disorders Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)*. Elsevier.
- Maulana, M. F. 2021. *Preparasi DYE Sensitized Solar Cell (DSS) Dengan Fotoelektroda ZnO-TiO2 Yang Tersensitiser Dari Buah Jamblang (Syzygium cumini) dan Buah Leunca (Solanum nigrum L)*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Mescher, A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks dan Atlas 12th ed*, Jakarta: EGC.362-70.

- Mitasari, Y. 2022. Pengaruh Ekstrak Daun Songgolangit (*Tridax procumbens* L.) Terhadap Jumlah Sel – Sel Spermatogenik, Ketebalan Sel sel Spermatogenik, dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Hiperglikemia yang Dinduksi Aloksan. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Mujimin dan Suratmi, S. 2013. Teknik Mencampur Larutan Fiksasi Untuk Histologi. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 11 (2): 137-140.
- Munaya, 2018. Efek Stres Puasa terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus *Rattus norvegicus*. Mutiara Medika. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 18(1): 1-7.
- Murwanti, R., Meiyanto, E., Nurrochmad, A., and Kristina, S. A. 2004. Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoria* Rosc.) Terhadap Pertumbuhan Tumor Paru Fase Post Inisiasi Pada Mencit Betina Diinduksi Benzo (a)piren. *Majalah Farmasi Indonesia*, 15(1). 7-12.
- Nugroho, R.A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Samarinda. Mulawarman University Press.
- Nurchayani, N., Busman, H., Sutyarso., Rahmawati, P.D., Kanedi, M. 2018. Efek Antispermatogenik Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Mencit. *Jurnal Farmasi dan Kimia*. 5 (4). 18-22
- Nwaehujor, C.O., Ode, J.O., Ekwere, M.R., dan Udegbumam, R.I. 2016. Efek anti kesuburan fraksi dari (*Carica papaya* L) menggunakan ekstrak akar metanol pada tikus wistar jantan. *Jurnal Kimia Arab*.
- Peixoto, G.C.X., Silva, M.A., Castelo T.S., Silva A.M., Bazerra, J.A.B, Souza, A.L.P. 2012. Individual Variation Related to Testicular Biometry and Semen Characteristics in Collared Peccaries (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758). *Animal Reproduction Science*. 134:191-196.
- Plantamor. 2023. Black Nightshade.
<http://plantamor.com/species/info/solanum/nigrum#gsc.tab=0> Diakses pada 25 September 2023.
- Poczai, P., J. Hyvonen. 2011. On The Origin of *Solanum nigrum*. *Molecular Biology Reports*. 38 (2). 1171-1185.
- Pranasita T. 2007. *Solanum nigrum* L. tersedia di:
http://toiusd.multiply.com/journal/item/177.Solanum_nigrum_L.
- Purushothaman, M., Soujanya, H., Jagadeeshwari, S. and Kumar, S.K. 2020. Analysis of Papaya Plant Sample for Antispermatogenic Properties.

International Journal of Pharmacometrics and Integrated Biosciences.
5(2). 41–43.

Purwoistri, R. F. 2010. Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Spermatogenesis dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

Rahmanisa S. 2014. Steroid Sex Hormone And It's Implementation To Reproductive Function. *Juke Unila*. 4(7): 97-105.

Rahmawati, P. D. 2018. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Eekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Rikenawaty, I.R. 2012. Efek Antiosteoklastogenesis Ekstrak Etanol 96% Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Sel RAW 264 Secara in Vitro. (Tesis). Sekolah Pascasarjana. Universitas Indonesia. Depok.

Rizzo, D. 2010. *Fundamentals of Anatomy & Physiology (3rd ed)*. Thomson Learning International Division.

Ross, M.H., Pawlina, W. 2011. *Histology: Atext and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology 6th Ed*. Lippincott Williams and Wilkins, China.

Rugh, R. 1968. *The Mouse its Reproduction and Development*. Burgess Publishing Company, New York.

Saragih, S.H.Y., Aisyah, S.I., and Sobir, D. 2019. Induksi Mutasi Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.) untuk Meningkatkan Keragaman Kandungan Tanin. *International Journal of Agronomy*. 47(1). 84-89.

Setia, T.R. 2012. Pengaruh Infusa Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Swiss Webster Jantan. (Tesis). Fakultas Kedokteran. Universitas Kristen Maranatha. Bandung.

Siemonsa, J.S., Jansen, P.C.M. 1994. *Solanum americanum* Miller. *Plant resource of South East Asia*. 8. 252-255.

Shamim, S., Ahmed, S.W., Azhar, I. 2004. Antifungal Activity of Allium, Aloe, and *Solanum* Species. *Pharmaceutical Biology*, 42(7). 491-498.

- Sherwood, L., Yance, K.H., dan Paul, H. 2005. *Animal Physiology Form Gees to Organism*. Thomson Books/cole. United States.
- Sobti, R.C. 2008. *Animal Physiology*. Narosa Publishing House, New Delhi
- Somala, L. 2006. Sifat Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Betina yang Mendapat Pakan Tambahan Kemangi (*Ocimum basilicum*) Kering. (Skripsi). Program Studi Teknologi Produksi Ternak. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sutyarso, Busman. H., Kanedi. M., and Muhartono. 2016. Rhizome Extract of White Ginger (*Zingiber officinale Roxb*) Maintains Testicular Function of Aging Mice. *International Journal of Nutrition and Food Science*. 5(3): 175-178.
- Tortora, G. J., and Derrickson, B. 2009. *Principles of Anatomy & Physiology*. John Wiley & Sons. Inc.
- Yorijuly. 2012. *Perhitungan Dosis Untuk Hewan Percobaan*.
- Varghese, A., Angali, C., Ang, W.J., Furquan, P, Ashok, A. 2014. Anatomy and physiology of male gametogenesis. *Male reproductive system anatomy and physiology*. 4–8.
- Wonodirekso, S. 2003. *Penuntun Praktikum Histologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.