

1. TEMPERATUR
2. SPERMATOGENESIS
3. TESTIS

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KIK
TKR 07/01
Rat
P

TESIS

**PENGARUH TEMPERATUR TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGIS TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

HERMIN RATNANI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

SURABAYA

2001

**PENGARUH TEMPERATUR TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGIS TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

**Untuk memperoleh gelar Magister
Dalam program studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Program Pasca Sarjana
Universitas Airlangga**

Oleh :

HERMIN RATNANI

NIM : 099813090 M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 30 Maret 2001



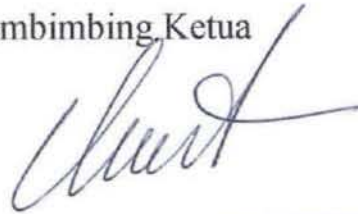
Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI

TANGGAL 20 JULI 2001

Oleh :

Pembimbing, Ketua



Prof. drh. I.G.B. Amitaba

Pembimbing



Mas'ud Hariadi, drh. M Phil. PhD

NIP : 130 531 810

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Dr. Lucky Hinting, Ph.D

NIP : 1303373509

Telah diuji pada

Tanggal 30 Maret 2001

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. dr. A. Marlinata

Anggota : 1. dr. Aucky Hinting, PhD
2. Prof.drh. I. G. B. Amitaba.
3. Mas'ud Hariadi, drh. M Phil. PhsD
4. Prof. Dr. Sarmanu, drh

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke Hadirat Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala Rahmat dan KaruniaNya sehingga tesis ini dapat saya selesaikan dengan baik.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak Prof.drh. I.G.B. Amitaba, sebagai pembimbing ketua yang dengan segala perhatiannya telah memberikan dorongan, bimbingan dan arahan dalam menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak Mas'ud Hariadi, drh. M. Phil. PhD., sebagai pembimbing yang dengan penuh perhatian memberikan arahan dalam penulisan tesis ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak Prof. Dr. Sarmanu, drh., yang telah memberikan arahan metodologi penelitian dan statistik.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak dr Aucky Hinting PhD., yang telah banyak memberikan masukan, saran dan nasehat yang sangat bermanfaat untuk penulisan tesis ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak Prof. dr. Marlinata selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan dalam penulisan tesis ini.

Saya sampaikan permohonan maaf dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang tercinta Suamiku, anak-anaku Andhika Mahendra SP dan Hanggara Haidar Azmi serta pengasuh anak-anaku Suswanah, yang telah memberikan dorongan dan motivasi dalam penyelesaian Program Magister ini.

Semoga tulisan ini bermanfaat bagi yang memerlukan, walaupun masih jauh dari sempurna.

Penulis,

Drh. Hermin Ratnani

RINGKASAN

Spermatogenesis sangat peka terhadap berbagai pengaruh lingkungan, salah satunya adalah temperatur yang tinggi. Peningkatan temperatur beberapa derajat diatas temperatur dalam skrotum dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan pada varikokel maupun kriptorkid, dimana testis berada pada temperatur tubuh, terjadi gangguan proses spermatogenesis. Dalam penelitian ini dilakukan pemaparan testis pada temperatur yang lebih tinggi dan bervariasi dengan lama pemaparan yang berbeda-beda. Hal ini dilakukan untuk mengetahui efek lebih lanjut dari pemaparan tersebut terhadap gangguan proses spermatogenesis maupun untuk mengetahui pemulihan spermatogenesis.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan faktorial. Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) sebanyak 96 ekor, dibagi menjadi 2 sub kelompok yaitu : sub kelompok I (48 ekor) dan sub kelompok II (48 ekor). Masing-masing sub kelompok tersebut dibagi menjadi 12 kelompok yang terdiri dari 4 ekor mencit jantan.

Pemaparan dilakukan pada temperatur 39⁰, 40⁰, 41⁰ C selama setengah jam setiap hari dengan lama pemaparan masing-masing sehari, 4 hari dan 7 hari. Pengamatan secara histologis untuk sub kelompok I dilakukan 1 hari setelah akhir pemaparan dan sub kelompok II 35 hari setelah akhir pemaparan.

Parameter histologis testis diwakili oleh pengamatan terhadap berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid.

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Analisis Variasi dua arah dengan tingkat signifikansi 0,05 dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Hipotesis penelitian pemaparan temperatur tinggi pada testis mencit jantan adalah sebagai berikut : (1) Temperatur pemaparan berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. (2) Lama pemaparan berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. (3) Terdapat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan terhadap proses spermatogenesis. (4) Pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan terjadi pemulihan spermatogenesis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa : (1) Pada pemaparan temperatur 39°C selama 1 hari tidak terjadi penurunan yang bermakna proses spermatogenesis. Hal ini dapat diamati dengan tidak adanya penurunan berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid. (2) Pada pemaparan temperatur 40°C dan 41°C selama 1 hari terjadi penurunan yang bermakna ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid, namun tidak terjadi penurunan yang bermakna dari berat testis. (3) Pada pemaparan temperatur 39° , 40° , 41°C selama 4 hari dan 7 hari terjadi penurunan yang bermakna dari berat testis, ukuran diameter tubulus

seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid. (4) Pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan belum terjadi pemulihan spermatogenesis kecuali pada pemaparan temperatur 39°C selama 1 hari.

Kesimpulan : Pemaparan temperatur 39° , 40° , 41° C setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari pada testis mencit jantan adalah sebagai berikut : (1) Temperatur pemaparan berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. (2) Lama pemaparan berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. (3) Terdapat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan terhadap proses spermatogenesis yaitu, dengan makin tinggi temperatur dan makin lama pemaparan proses spermatogenesis semakin menurun, kecuali pemaparan temperatur 39° C selama 1 hari. (3) Pada pemaparan temperatur 41° C selama 7 hari tidak teramati adanya sel-sel germinal (sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatid). (4) Pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan belum terjadi pemulihan spermatogenesis, kecuali pada pemaparan temperatur 39° C selama 1 hari.

Saran : Berdasarkan hasil penelitian ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai reversibilitas spermatogenesis akibat pengaruh pemaparan temperatur pada testis dengan interval variasi temperatur maupun interval lama pemaparan yang lebih singkat. Hal ini penting didalam mengungkap dan menangani secara tuntas terhadap kejadian infertilitas yang disebabkan oleh pengaruh temperatur serta memberikan informasi bagi pekerja di lingkungan temperatur tinggi agar berhati-hati terhadap akibat infertilitas yang ditimbulkan.

ABSTRACT**THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON HISTOLOGICAL PREVIEW OF MICE (*Mus musculus*)**

Spermatogenesis is highly sensitive at various environmental influence, high temperature is one of them. The increased of temperature for few degrees will disturb spermatogenesis.

Previous research on varicocele and criptorchid, which testicle was exposed on body temperature resulted in the spermatogenesis disturbance. The present research was animal to determine and whether the exposure of testicle on various temperature and various length of time might disturb further process of spermatogenesis in mice.

Factorial design was used in this research. Ninety-six male mice that were divided into 2 groups : 48 mice group I and 48 mice in group II, then each group were divided into 12 sub groups each consisted 4 mice. All mice were exposed to scrotal heating at 39^o, 40^o, 41^oC 30 minute/day for 1,4 and 7 days. Mice in each group were killed the day after and 35 day after end exposure. Histological observation was represented by observation of testicle weight, seminiferous tubular diameter, the number of spermatogonia cells, the number of primary spermatocyte cells and the number of spermatid cells.

The result showed that temperature exposure inhibited spermatogenesis in the groups of mice except in group on 39^oC for 1 day. There were significant differences on the mean of testicular weight, seminiferous tubular diameter, the number of spermatogonia cells, the number of primary spermatocyte cells and the number of spermatid cells between treatment and control groups ($p < 0,05$). There were no recovery of spermatogenesis 35 days after exposure except in group 39^oC for 1 day.

It was concluded that the higher temperature and the length of exposure influenced spermatogenesis through histological changes of the testis.

(Key words : Temperature, Spermatogenesis, Testis, Mice)

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul depan	i
Sampul dalam	ii
Prasyarat gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan panitia	v
Ucapan terima kasih	vi-viii
Ringkasan	ix-xi
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii-xiv
DAFTAR TABEL	xv-xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii-xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	
1.3.1. Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	6
1.4. Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sistem Reproduksi Jantan.....	8
2.2 Histologis Testis	9
2.3 Spermatogenesis	14
2.4 Steroidogenesis.....	22
2.5 Temperatur dan Spermatogenesis.....	28
2.6 Perlindungan sel terhadap peningkatan temperatur...	32
2.7 Penentuan Hewan percobaan.....	34
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Landasan Teori.....	35
3.2 Skema Kerangka Konseptual	37
3.4 Hipotesis Penelitian	38
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis Penelitian	39
4.2 Rancangan Penelitian	39
4.3 Sampel Penelitian	
4.3.1 Estimasi Besar Sampel	42
4.3.2 Cara Pengambilan Sampel.....	43
4.4 Variabel Penelitian	
4.4.1 Klasifikasi Variabel.....	43
4.4.2 Definisi Operasional Variabel.....	44

4.5	Material	45
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	46
4.7	Prosedur Penelitian.....	46
4.8	Teknik Analisis Data.....	47
4.9	Diagram Alur Penelitian.....	48
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN		
5.1	Berat Testis.....	49
5.2	Diameter tubulus seminiferus.....	51
5.3	Jumlah sel spermatogonia.....	54
5.4	Jumlah sel spermatosid primer.....	56
5.5	Jumlah sel spermatid.....	58
BAB 6 PEMBAHASAN.....		
		66
BAB 7 KESIMPULAN		
7.1	Kesimpulan	78
7.2	Saran.....	79
DAFTAR PUSTAKA.....		80
LAMPIRAN.....		86

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1. Rata-rata berat testis mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	49
Tabel 5.2. Rata-rata berat testis mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	50
Tabel 5.3. Rata-rata berat testis mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh interaksi antara temperatur dan lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	51
Tabel 5.4. Rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	52
Tabel 5.5. Rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit pengaruh kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	52
Tabel 5.6. Rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh interaksi antara temperatur dan lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	53
Tabel 5.7. Rata-rata jumlah sel spermatogonia mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	54
Tabel 5.8. Rata-rata jumlah sel spermatogonia mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	54

Tabel 5.9. Rata-rata jumlah sel spermatogonia mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh interaksi antara temperatur dan lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan	55
Tabel 5.10. Rata-rata jumlah sel spermatosit primer mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan	56
Tabel 5.11. Rata-rata jumlah sel spermatosit primer mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan	57
Tabel 5.12. Rata-rata jumlah sel spermatosit primer mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh interaksi antara temperatur dan lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.	58
Tabel 5.13. Rata-rata jumlah sel spermatid mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.	59
Tabel 5.14. Rata-rata jumlah sel spermatid mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	59
Tabel 5.15. Rata-rata jumlah sel spermatid mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh interaksi antara temperatur dan lama pemaparan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Berat testis 1 hari setelah akhir pemaparan	86
Lampiran 2 Hasil Uji Analisis Varian dua arah berat testis 1 hari setelah pemaparan	88
Lampiran 3 Hasil Uji BNT berat testis 1 hari setelah akhir pemaparan.....	89
Lampiran 4 Berat testis 35 hari setelah akhir pemaparan	96
Lampiran 5 Hasil Uji Analisis Varian dua arah berat testis 35 hari setelah akhir pemaparan	98
Lampiran 6 Hasil Uji BNT berat testis 35 hari setelah akhir pemaparan	99
Lampiran 7 Diameter tubulus seminiferus 1 hari setelah akhir pemaparan	106
Lampiran 8 Hasil Uji Analisis Varian dua arah diameter tubulus seminiferus 1 hari setelah akhir pemaparan	108
Lampiran 9 Hasil Uji BNT diameter tubulus seminiferus 1 hari setelah akhir pemaparan	109
Lampiran 10 Diameter tubulus seminiferus 35 hari setelah akhir pemaparan	117
Lampiran 11 Hasil Uji Analisis Varian dua arah diameter tubulus seminiferus 35 hari setelah akhir pemaparan	119
Lampiran 12 Hasil Uji BNT diameter tubulus seminiferus 35 hari setelah akhir pemaparan	120
Lampiran 13 jumlah sel spermatogonia 1 hari setelah akhir pemaparan	127
Lampiran 14 Hasil Uji Analisis Varian dua arah jumlah sel spermatogonia 1 hari setelah akhir pemaparan	129
Lampiran 15 Hasil Uji BNT jumlah sel spermatogonia 1 hari setelah akhir pemaparan	130

Lampiran 16 Jumlah sel spermatogonia 35 hari setelah akhir pemaparan	137
Lampiran 17 Hasil Uji Analisis Varian dua arah jumlah sel spermatogonia 35 hari setelah akhir pemaparan	139
Lampiran 18 Hasil Uji BNT jumlah sel spermatogonia 35 hari setelah akhir pemaparan	140
Lampiran 19 Jumlah sel spermatis primer 1 hari setelah akhir pemaparan	147
Lampiran 20 Hasil Uji Analisis Varian dua arah jumlah sel spermatis primer 1 hari setelah akhir pemaparan ...	149
Lampiran 21 Hasil Uji BNT jumlah sel spermatis primer 1 hari setelah akhir pemaparan	151
Lampiran 22 Jumlah sel spermatis primer 35 hari setelah akhir pemaparan	157
Lampiran 23 Hasil Uji Analisis Varian dua arah jumlah sel spermatis primer 35 hari setelah akhir pemaparan	159
Lampiran 24 Hasil Uji BNT jumlah sel spermatis primer 35 hari setelah akhir pemaparan	160
Lampiran 25 Jumlah sel spermatid 1 hari setelah akhir pemaparan	167
Lampiran 26 Hasil Uji Analisis Varian dua arah jumlah sel spermatid 1 hari setelah akhir pemaparan	169
Lampiran 27 Hasil Uji BNT jumlah sel spermatid 1 hari setelah akhir pemaparan	170
Lampiran 28 Jumlah sel spermatid 35 hari setelah akhir pemaparan	177
Lampiran 29 Hasil Uji Analisis Varian dua arah jumlah sel spermatid 35 hari setelah akhir pemaparan	179
Lampiran 30 Hasil Uji BNT jumlah sel spermatid 35 hari setelah akhir pemaparan	180
Lampiran 31 Prosedur pembuatan sediaan histologis testis mencit	187

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Diagram jumlah pembelahan yang terjadi dan jenis sel spermatogenik.....	16
Gambar 2.2 Tahap-tahap spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel tertentu	21
Gambar 5.1 Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok kontrol.....	62
Gambar 5.2 Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok pemaparan temperatur 40 ⁰ C selama 4 hari.....	63
Gambar 5.3 Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok pemaparan temperatur 41 ⁰ C selama 7 hari, pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	64
Gambar 5.4 Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok pemaparan temperatur 41 ⁰ C selama 7 hari, pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan.....	65

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang

Spermatogenesis berlangsung didalam tubulus seminiferus testis melalui tahapan-tahapan yang sangat kompleks, sangat panjang dan lama serta secara teoritis lebih mudah terganggu oleh pengaruh-pengaruh dari luar dibanding dengan proses steroidogenesisnya (Simorangkir, 1997; de Kretser *et al*, 1998).

Salah satu faktor dari luar yang diketahui dapat berpengaruh negatif pada spermatogenesis adalah temperatur. Pada kebanyakan mamalia spermatogenesis akan berjalan normal apabila temperatur testis lebih rendah dari temperatur normal tubuh yaitu 32-34⁰C. Oleh karena itu testis harus berada dalam suatu kantong diluar tubuh yang disebut skrotum dengan temperatur yang lebih rendah (Morgentaler *et al*, 1999).

Sedikit kenaikan temperatur dalam skrotum beberapa derajat Celcius saja sudah menghambat spermatogenesis seperti pada sakit demam, tukang masak di restoran besar, sopir truk jarak jauh, celana ketat, sering mandi sauna atau mandi uap, mempunyai gambaran spermiogram yang jelek sekali dan potensi fertilitasnya berkurang (Marlinata dkk, 1980 ; Samuel *et al*, 1986).

Pada kriptorkid, dimana testis tidak mengalami penurunan kedalam skrotum dan tetap berada dalam rongga perut atau di daerah inguinal, dimana temperaturnya

lebih tinggi dibanding dengan temperatur didalam skrotum mengakibatkan spermatogenesis tidak dapat berlangsung normal (Mieusset *et al*, 1985).

Proses spermatogenesis memerlukan kerja optimal dari hormon-hormon seks dan enzim pada lingkungan dengan temperatur sedikit lebih rendah dari temperatur normal tubuh. Morgentaler *et al* (1999), mengatakan bahwa beberapa protein testis berfungsi paling baik pada temperatur skrotum yang lebih dingin. Sebagai contoh isoenzym testikuler *cholesteryl ester hydrolase* yang bersifat temperatur labil dan merupakan isoenzym somatik yang temperatur stabil (Wee and Grogran, 1993).

Akibat pengaruh lingkungan panas pada testis beberapa derajat Celcius diatas suhu optimal dapat mengganggu aktivitas enzim dalam sintesa protein khususnya didalam testis. Dalam rangkaian sintesa protein diperlukan sistem enzim mulai dari proses transkripsi yaitu pembentukan mRNA oleh DNA yang dikatalisa oleh DNA *polimerase* didalam inti, yang kemudian ditranslasikan kedalam sitoplasma yaitu pada ribosom. Sementara itu t-RNA membawa dan memasangkan asam amino yang sesuai dengan rangkaian kodon yang dibawa oleh mRNA kedalam ribosom. Menurut Nicholls dan Rakhra (1981), bahwa *binding* t-RNA kedalam ribosom memerlukan aktivitas aminoasil t-RNA *sintetase*. Adanya penurunan aktivitas enzim tersebut dapat mengganggu sintesa protein, padahal protein sangat diperlukan untuk pembentukan, pertumbuhan dan perkembangan sel terutama sel germinal sehingga dapat menghambat proses spermatogenesis.

Aktivitas enzim *m-rec* dalam meiosis pada tikus 5 kali lebih besar pada temperatur 33°C dari pada temperatur 37°C (Stephen, 1993).

Tahap sel germinal yang paling peka terhadap panas adalah spermatosit primer dan spermatid awal. Gangguan yang terjadi pada tahap tersebut dapat menimbulkan *germ cell loss*. Sedangkan pada eksperimen kriptorkid menunjukkan bahwa, spermatogonia relatif resisten terhadap panas dibandingkan tipe sel germinal lainnya (Morgentaler *et al*, 1999). Selanjutnya derajat vakuolisasi merupakan tanda terjadinya *germ cell loss* yang luas didalam tubulus.

Menurut Astuti (2000), temperatur intraskrotal yang meningkat melandasi terjadinya penanggalan dan disorganisasi sel-sel germinal. Salah satu manifestasi seluler yang terjadi akibat ekspos temperatur adalah kondensasi komponen nukleus, diakhiri dengan piknosis spermatosit dan spermatid awal maupun terbentuknya *multi nucleated giant cells* (Morgentaler *et al*, 1999), rusaknya inti akan menyebabkan sel tidak mampu mengadakan pembelahan.

Pada kejadian varikokel maupun kriptorkid efek langsung temperatur pada sel germinal adalah akibat dari berkurangnya kadar testosteron intratestikuler yang disebabkan gangguan fungsi sel Leydig (Su *et al*, 1995; Keel *et al*, 1993)

Gangguan proses spermatogenesis karena pengaruh temperatur yang mungkin terjadi dapat berupa gangguan pada saat pembelahan atau perkembangan mulai dari spermatogonia sampai menjadi spermatozoa, terputusnya perkembangan sel pada salah satu tahap saja dan terjadinya pelepasan sel-sel germinal.

Peningkatan temperatur pada testis menyebabkan disintesisnya protein renjatan panas yang disebut HSP (*heat shock protein*), sebagai mekanisme perlindungan sel. (Ramzi *et al*, 1994 ; Max Perutz,1992; Welch, 1993).

Germ cell loss yang terjadi akibat pemaparan temperatur pada testis, akan menyebabkan berkurangnya ketebalan epitelium tubulus seminiferus testis dan menurunnya berat testis sehingga pada akhirnya berakibat penurunan fertilitas, bahkan dapat terjadi sterilitas (Yizhong Yin *et al*, 1997).

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas diperlukan penelitian tentang respon testis terhadap pengaruh temperatur yang bervariasi dengan lama pemaparan yang berbeda, melalui pengamatan histopatologis dalam hal gangguan perkembangan mulai spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid masing-masing dihitung jumlahnya dan terjadinya pemulihan spermatogenesis 35 hari setelah akhir pemaparan.

Disamping itu juga dilakukan pengukuran berat testis. Akibat adanya hambatan perkembangan maupun *germ cell loss* maka akan terjadi penurunan berat testis, dengan demikian akan semakin jelas patogenesis infertilitas yang disebabkan oleh pengaruh temperatur secara histopatologis.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka pemaparan temperatur 39° , 40° , 41°C setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari pada testis pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah temperatur pemaparan mempengaruhi spermatogenesis ?
2. Apakah waktu pemaparan mempengaruhi spermatogenesis ?
3. Apakah terdapat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan terhadap spermatogenesis ?
4. Apakah pada 35 hari setelah akhir pemaparan terjadi pemulihan spermatogenesis ?

Spermatogenesis dalam hal ini diwakili oleh pengamatan terhadap berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatisit primer dan jumlah sel spermatid.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemaparan temperatur dengan suhu yang bervariasi (39° , 40° , 41°C) dan lama pemaparan yang berbeda (sehari, 4 hari dan 7 hari) terhadap spermatogenesis, kerusakan yang terjadi pada testis mencit jantan secara histopatologis dan terjadinya pemulihan spermatogenesis pada 35 hari setelah akhir pemaparan.

1.3.2. Tujuan Khusus

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah pemaparan temperatur dengan suhu 39° , 40° , 41°C setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan terhadap :

1. Berat testis
2. Ukuran diameter tubulus seminiferus
3. Jumlah sel spermatogonia
4. Jumlah sel spermatosit primer
5. Jumlah sel spermatid

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai acuan dalam upaya :

1. Mengungkapkan terjadinya infertilitas pada pria akibat pengaruh temperatur secara histopatologis.
2. Memberikan informasi mengenai patogenesis infertilitas karena stres temperatur tinggi.
3. Sebagai bahan kajian dalam pengembangan kontrasepsi pria khususnya yang berorientasi pada pengaruh temperatur.
4. Mengetahui pemulihan spermatogenesis dalam rangka melihat reversibilitas kesuburan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sistem Reproduksi Jantan

Organ reproduksi utama jantan adalah testis, terdiri dari sepasang testis yang terletak didalam kantong disebut skrotum sebagai pembungkus dan menjaga temperatur testis agar berada dibawah temperatur tubuh, kondisi ini diperlukan untuk proses spermatogenesis normal.

Testis dilengkapi dengan saluran-saluran yaitu epididymis, duktus deferens, urethra di dalam penis serta kelenjar tambahan yang terdiri dari prostat, vesikulaseminalis, bulbourethralis (de Kretser, 1992 ; Delman and Brown, 1992).

Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus, merupakan tempat produksi spermatozoa sebagai hasil pembelahan dari sel-sel epitelium germinalis yang terjadi secara berurutan. Sel-sel yang telah membelah membentuk sel-sel baru yang segera digeser kearah lumen tubulus seminiferus, selanjutnya berkembang membentuk ekor yang nantinya menjadi spermatozoa yang dapat bergerak bebas . Perkembangan dan pembelahan sel – sel germinal berjalan dari perifer kearah medial menuju lumen tubulus seminiferus. Selama proses tersebut spermatozoa menerima makanan dari sel Sertoli. Dari tubulus seminiferus spermatozoa berjalan menuju rete testis, duktus eferens, duktus

deferens dan epididymis. Selama perjalanan spermatozoa relatif tidak bergerak dan harus diangkut dengan kontraksi otot maupun aliran cairan (Delman and Brown, 1978; Rahayu, 1994).

Epididymis terdiri dari kepala, badan dan ekor. Spermatozoa berada dalam epididymis selama satu sampai tiga minggu dan selama itu terjadi perubahan dalam penampilan, kemampuan gerak, ukuran dan fungsi metabolismenya. Dari vas deferens dengan adanya kontraksi otot polos spermatozoa bergerak menuju ke urethra (Bevelander and Ramaley, 1988).

2.2. Histologis Testis

Testis diselubungi oleh tiga lapisan berturut-turut dari luar ke dalam yaitu:

1. Tunika vaginalis, disusun oleh satu lapisan mesotelium
2. Tunika albuginea, terdiri dari jaringan fibroblas, sel otot polos
3. Tunika vaskulosa, merupakan lapisan bagian dalam testis yang banyak mengandung pembuluh darah (Ferdinandus, 1980).

Pada bagian tepi proksimal testis terdapat penebalan tunika albuginea yang berjalan memasuki testis disebut mediastinum testis, membentuk sekat-sekat untuk memberi jalan bagi pembuluh darah dan saraf serta membagi testis menjadi beberapa lobulus. Dalam tiap lobulus terdapat saluran panjang berkelok-kelok yang disebut tubulus seminiferus (Hafez, 1993).

Tubulus seminiferus merupakan 90% jaringan yang menyusun testis, didalam tubulus inilah terjadi proses spermatogenesis. Diantara tubulus seminiferus terdapat jaringan ikat, saraf, pembuluh darah, limfe dan sel interstisial Leydig yang menskresikan hormon testosteron . Beberapa tubulus seminiferus berkumpul menuju satu arah yaitu ke rete testis. Rete testis berlanjut kedalam duktus deferens untuk kemudian disambung membentuk kepala epididymis (Delman and Brown, 1992; Hafez, 1993).

Tubulus seminiferus testis dibatasi oleh membrana basalis dengan epitelium pipih. Sel-sel penyusun tubulus seminiferus adalah epitel berlapis kuboid yang berubah-ubah, melekat langsung pada membran basalis. Sel-sel epitel tersebut adalah spermatogonia tipe A, spermatogonia tipe antara (*intermediate*) dan sel Sertoli (Ferdinandus, 1980)

Sel germinal penyusun membrana basalis terdiri dari 4-8 lapis. Pada bagian luar dinding membrana basalis terdiri dari sel peritubuler myoid yang memiliki ciri otot polos dan beberapa lapis fibroblas. Lapisan-lapisan tersebut berfungsi membantu pembentukan *blood testis barrier* pada sisi luar yang dapat berkontraksi untuk membantu mengeluarkan spermatozoa dari testis (Ross and Reith, 1985).

Sel spermatogonia merupakan lapisan pertama penyusun tubulus seminiferus, berbentuk kubus atau bulat. Pada mencit ada beberapa tipe spermatogonia A, tipe antara dan tipe B. Pada manusia ada tipe Ad (dark), Ap (pale) dan tipe B. Spermatogonia tipe A menyerupai gonosit dengan membran sel yang jelas dan

mempunyai kromatin halus, terletak sepanjang membrana basalis. Inti berbentuk oval, mempunyai satu sampai dua anak inti yang diliputi oleh kromatin dan terdiri dari granula kromatin yang halus (Tienhoven, 1983 ; Leblond and Clermont, 1952). Menurut Clermont dan Bustos Obregon (1968), spermatogonia tipe A dibagi menjadi spermatogonia tipe *reserve* (A_0) dan tipe *renewing* (A_1 - A_4).

Tipe A_0 hanya dipergunakan untuk persediaan dan melalui mitosis berubah menjadi populasi spermatogonia. Spermatogonia tipe antara intinya memanjang pada dasar tubulus dan kromatinnya bergerombol pada lapisan atas sepanjang permukaan dari membran inti. Spermatogonia tipe B intinya berbentuk spheris, terdiri dari gumpalan kromatin kasar sepanjang permukaan dalam dari membran inti. Spermatogonia tipe Ad, intinya berbentuk oval mempunyai kromatin halus tetapi tampak gelap, ditengah inti terdapat vakuola yang pucat, bisa dijumpai 1-2 anak inti yang menempel pada permukaan dalam membran inti. Spermatogonia Ap juga mempunyai inti yang ovoid atau discoid, tercat pucat sehingga tampak terang, kromatinnya sangat halus dan dapat dijumpai 1-2 anak inti yang menempel pada permukaan dalam membran inti (de Kretser, 1992; Leblond and Clermont, 1952).

Spermatosit primer dalam proses meiosis melalui beberapa tahapan yaitu leptoten, zigoten, pakiten, diploten dan diakinesis. Pada tahap pra leptoten inti berbentuk spheris, kromatin tercat gelap dan bergranula serta terakumulasi pada bagian dalam membran inti dan anak inti. Dalam melalui tahapan tersebut ukuran sel dan intinya makin bertambah besar, benang kromatinnya yang semula halus

bertambah tebal dan memendek. Dari tahapan tersebut yang paling lama periodenya adalah tahap pakiten dan secara histologis hampir dijumpai pada tiap potongan melintang tubulus seminiferus testis. Spermatisit primer mudah dikenali dari ukurannya yang lebih besar dibandingkan dengan spermatogonia dan sel-sel germinal yang lain, sitoplasmanya lebih banyak, inti lebih gelap dan letaknya agak jauh dari membrana basalis yaitu pada lapisan berikutnya setelah sel-sel spermatogonia (Tienhoven, 1983; de Kretser *et al*, 1988).

Spermatisit sekunder terbentuk setelah pembelahan meiosis I, mempunyai ukuran kurang lebih separuh dari ukuran spermatisit primer yang paling tua. Intinya berbentuk bulat spheris, kromatin intinya halus dan tercat gelap serta mengandung masa kromophilik yang besar, globuler yang tercat gelap. Spermatisit sekunder umurnya sangat pendek dan segera membelah membentuk spermatid (de Kretser *et al*, 1988).

Spermatid yang baru terbentuk ini bentuknya bulat, ukuran kurang lebih separuh dari ukuran spermatisit primer tahap pakiten, inti bulat spheris yang berikutnya akan berubah bentuk menjadi lonjong, makin mengecil dan tampak padat serta sitoplasmanya sedikit sekali. Pada salah satu kutub inti akan terbentuk akrosom dan pada kutub yang berlawanan akan tumbuh ekor. Akhirnya spermatid yang lonjong akan berubah menjadi spermatozoa yang matang (belum matang secara fungsional) (de Kretser *et al*, 1988; Leblond *et al*, 1952).



Perubahan spermatid bulat menjadi spermatozoa dibagi menjadi 6 tahap, yaitu Sa, Sb₁, Sc, Sd₁ dan Sd₂. Spermatid Sa dan Sb intinya masih bulat, kromatinnya bergranula dan tampak terang. Dalam perkembangannya inti makin padat, tercat gelap dan berbentuk lonjong, sampai akhirnya menjadi lonjong memanjang pada spermatid yang matang, yaitu Sc dan Sd₁. Dalam perjalanannya sebagian besar sitoplasmanya akan terlepas dari selnya yaitu pada daerah dekat pangkal ekor dalam bentuk *residual bodies* yang akan difagositosis oleh sel Sertoli (Clermont, 1963; Tienhoven, 1983).

Spermatozoa yang telah matang yaitu sudah terbentuk ekor akan menempati lumen tubulus seminiferus testis dan ekornya membentuk pusaran.

Sel Sertoli terletak tersebar diantara sel-sel germinal, intinya terletak agak sentral dibandingkan sel spermatogonia, batas selnya sangat tidak teratur karena membentuk rongga-rongga yang ditempati oleh sel-sel germinal dan pada umumnya batas selnya tidak jelas. Intinya berbentuk ovoid atau piramid, khas dengan adanya lipatan membran inti ke arah dalam, tercat pucat dengan anak inti yang jelas terletak di tengah inti. Semua sel Sertoli duduk pada membrana basalis, apeksnya memanjang ke arah lateral dan bagian ujungnya meluas diantara serta mengitari setiap sel germinal, bahkan mencapai lumen tubulus seminiferus (Bardin *et al*, 1988; Clermont, 1993).

Sel Leydig terletak pada jaringan interstisial, diantara tubulus seminiferus bersama-sama pembuluh darah, limfe serta sel-sel leukosit antara lain makrofag.

Sel Leydig tersusun dalam kelompok membentuk seperti tali, setiap sel diikat oleh kapiler darah, bentuk selnya tidak teratur (polihedral) dengan inti bulat dan kromatinnya terletak di perifer. Diantara sel-sel yang berbatasan terdapat kanalikuli interseluler serta *gap junction* (Bevelander *et al*, 1988).

2.3. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses perkembangan di mulai dari spermatogonia tipe A, tipe antara , tipe B, spermatosit primer pra leptoten, zigoten, pakiten, diploten, diakinesis, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa (Tienhoven, 1983)

Proses spermatogenesis pada mamalia berlangsung di dalam tubulus seminiferus testis, secara berkesinambungan sepanjang masa reproduksi (de Kretser and Kerr, 1988). Pada tikus putih diperlukan waktu 48-52 hari sedangkan pada mencit 34,5-35,5 hari (Raugh, 1968 ; Bennet and Vickery, 1970).

Menurut Hardjopranjoto (1995) proses spermatogenesis pada hewan mamalia dibagi menjadi empat tahap yaitu :

1. Tahap proliferasi, tahap ini dimulai pada testis hewan sejak sebelum lahir sampai beberapa waktu setelah lahir.
2. Tahap tumbuh, pada tahap ini spermatogonia membagi diri secara mitosis sebanyak empat kali sehingga dihasilkan 15 spermatosit primer. Lama periode ini adalah 15-17 hari.

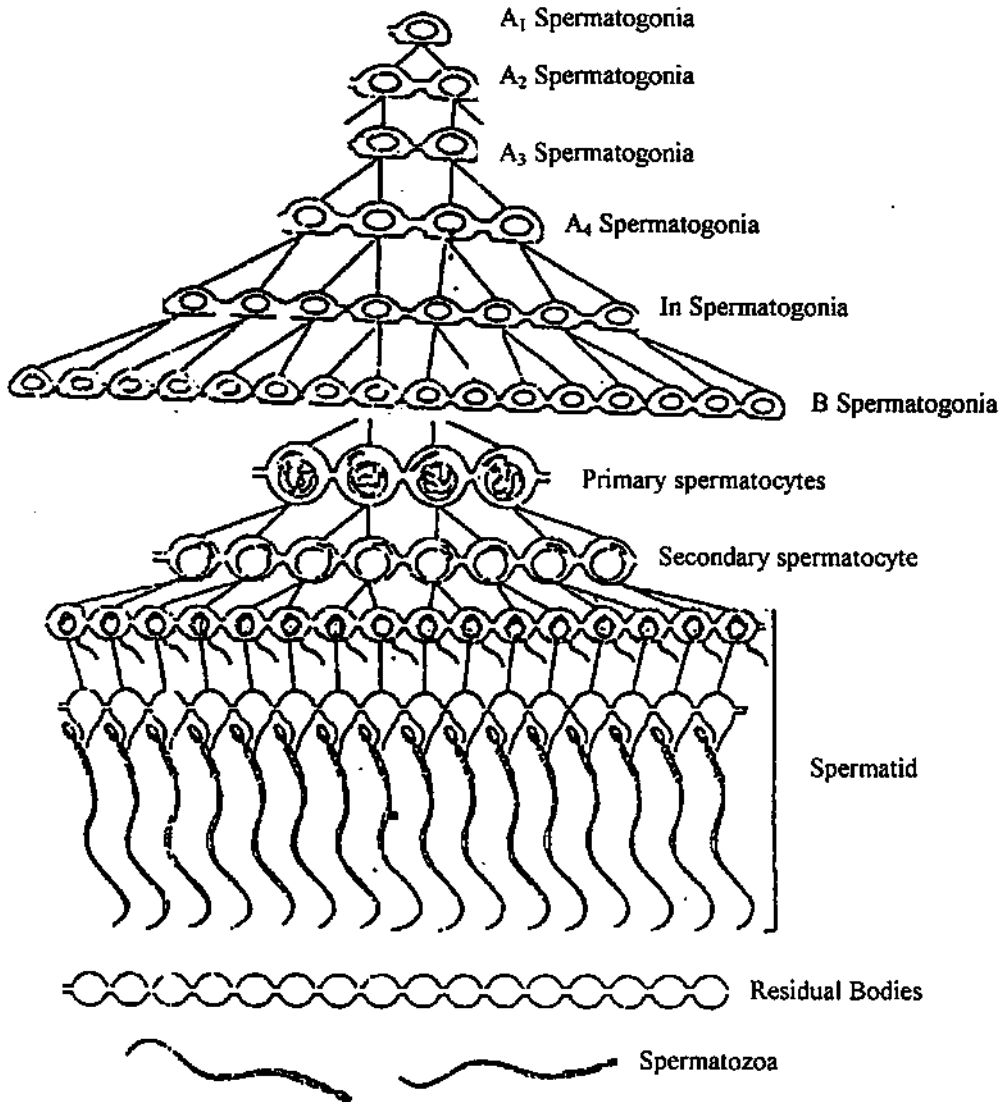
3. Tahap pemasakan, pada tahap ini terjadi pembelahan meiosis sehingga sel spermatosit primer berubah menjadi spermatosit sekunder dan jumlah kromosom menjadi separuhnya. Periode ini berjalan 15 hari. Beberapa jam kemudian spermatosit sekunder berubah menjadi spermatid.
4. Tahap transformasi, pada tahap ini terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid sehingga terbentuk sel spermatozoa. Periode ini membutuhkan waktu 15 menit. Dari satu sel spermatogonia akan terbentuk 64 buah sel spermatozoa.

Pada proses spermatogenesis terjadi tiga tahap utama yaitu :

1. Spermatositogenesis, yaitu pembelahan spermatogonia melalui mitosis.
2. Meiosis, yaitu reduksi jumlah kromosom
3. Spermiogenesis, yaitu transformasi sel spermatid menjadi spermatozoa yang berstruktur kompleks tanpa disertai pembelahan sel (de Kretser and Kerr, 1988; Junquiera *et al*, 1992)

Pada tikus spermatogonia A yang berkromosom diploid akan membelah empat kali secara mitosis membentuk spermatogonia antara yang kemudian akan mengalami mitosis satu kali membentuk spermatogonia tipe B. Spermatogonia tipe B kemudian akan membelah secara mitosis satu kali lagi membentuk spermatosit primer yang siap melakukan pembelahan meiosis, yaitu sel spermatosit tahap pra leptoten atau *resting spermatocyte*. Selain itu

spermatogonia juga mampu membentuk spermatogonia A baru dan membentuk populasi *stem cell* (Ross and Reith, 1985; Gilbert, 1991).



Gambar 2.1. Diagram jumlah pembelahan yang terjadi dan jenis sel spermatogenik terbentuk pada tiap tahap spermatogenesis (Gilbert 1991).

Spermatisit primer tahap pra leptoten kemudian masuk ke tahap pembelahan meiosis I yaitu secara berturut-turut leptoten, zigoten, pakiten dan diploten. Selanjutnya akan terbentuk spermatisit sekunder yang mempunyai susunan kromosom yang haploid dengan kandungan DNA diploid (de Kretser and Kerr, 1988).

Spermatisit sekunder segera akan menyelesaikan pembelahan meiosis yang kedua dengan proses pembelahan yang sama dengan mitosis, membentuk spermatid dengan kromosom haploid (Ross and Reith, 1985).

1. Tahap Golgi

Pada tahap ini terjadi pembentukan granula akrosomal. Granula ini bersama kompleks golgi bergerak ke arah inti dan melekatkan diri ke bawah selaput inti.

2. Tahap Tudung

Lekatan pada selaput inti kemudian meluas dan melebar membentuk lipatan yang luas dan tebal pada permukaan inti dan akhirnya meliputi separuh bagian dari inti dan membentuk selubung yang disebut *head cap* (tudung kepala).

3. Tahap Akrosom

Pada tahap ini sebagian besar akrosom tetap terletak pada kutub anterior inti, sedangkan sisa akrosom menyebar ke dalam tudung kepala. Akhirnya inti spermatid berbentuk memanjang.

4. Tahap Pemasakan

Pada tahap ini sitoplasma bergeser ke arah flagela, sitoplasma yang tidak digunakan dalam pembentukan flagela dibuang dalam bentuk *residual bodies*. Pada saat yang bersamaan mitokondria lambat laun bergerak ke arah flagela dan tersusun dalam bentuk spiral pada bagian ekor yang disebut *middle piece*. Selanjutnya kromatin inti memadat membentuk masa yang padat dan homogen.

Sel-sel germinal di dalam tubulus seminiferus testis dengan berbagai tahap perkembangannya tidak terdistribusi secara acak, melainkan tertata dengan pola asosiasi tertentu (Gambar 2.2). Waktu antara penampakan asosiasi sel tertentu dengan asosiasi sel yang sama dengan berikutnya disebut satu siklus epitelium. Pada tikus satu siklus epitelium dapat dibedakan atas 14 jenis asosiasi sel dan memerlukan waktu kurang lebih 12,3 hari, sedangkan pada manusia dikenal adanya 7 tahap yang memerlukan waktu 16 hari. Pada mencit satu siklus epitelium dapat dibedakan atas 14 jenis asosiasi sel dan memerlukan waktu 16 hari. Perubahan jumlah sel yang berasosiasi pada tahap tertentu dapat dijadikan indikator adanya gangguan spermatogenesis (Tienhoven, 1983).

Tahapan-tahapan siklus epitelium terdapat 14 tahapan, yang penulisannya dengan angka Romawi (I-XIV). Pada tahap I, kepala spermatozoa yang belum matang biasanya jauh dari membara basalis dan

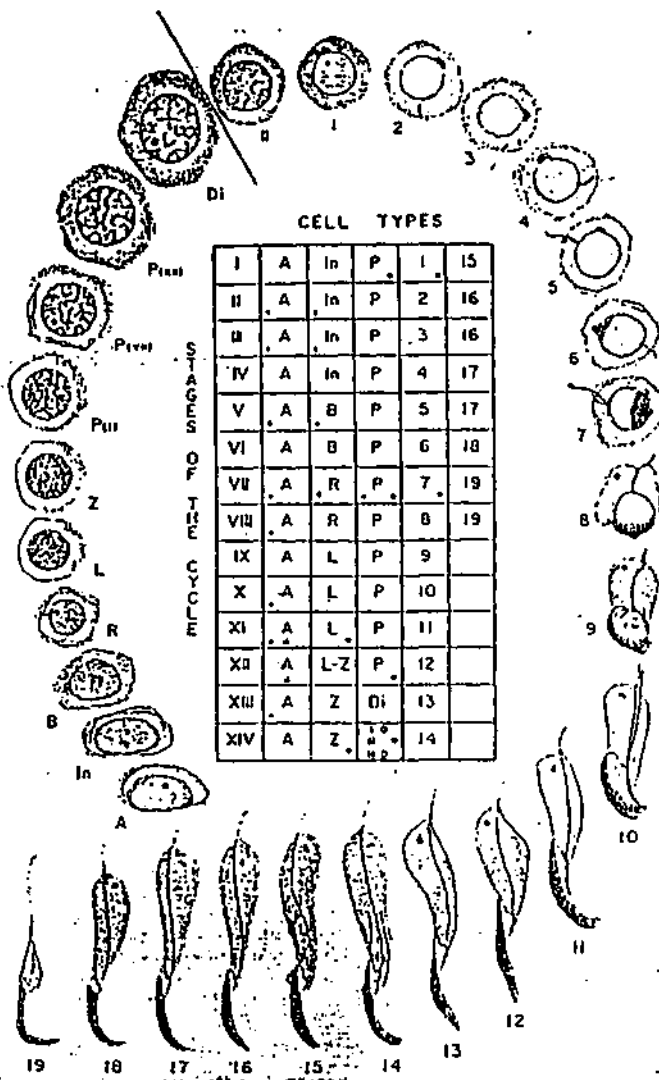
sitoplasmanya seperti bentukan globuler didalam lumen tubulus seminiferus. Pada tahap II-V kepala spermatozoa sudah berkelompok sehingga disebut *bundles*. Pada tahap VI *budles* mulai bergeser kearah lumen, sehingga pada tahap VII dan terutama pada tahap VIII, kepala spermatozoa yang belum matang tersebut sudah melingkupi sekitar lumen dengan ekor yang membentuk pusaran ditengah lumen. Pada tahap IX, spermatozoa telah pergi meninggalkan lumen, dan lapisan terdalam saat itu adalah spermatid muda, yang mana topinya (*head cap*) telah terorientasi pada membrana basalis dan sitoplasmanya terakumulasi pada sisi sebelah lumen. Selama tahap X-XIII, spermatid memanjang dan bentukan globular sitoplasmanya dapat dilihat didalam lumen. Akhirnya pada tahap XIV, akan tampak sedikit disorganisasi dari seluruh epitelium berkaitan dengan pembelahan dari spermatosit primer dan spermatosit sekunder (Leblond and Clermont, 1952).

Tahap VI, diawali dengan telah tumbuhnya topi dari spermatid pada tahap VI, yang dari pandangan samping tampak seperti sebuah topi kecil pada permukaan luar suatu kutub inti. Jumlah sel Sertoli tipe perpendikular akan meningkat pada tahap VI, VII dan VIII, tetapi masih selalu lebih sedikit dibanding dengan tipe paralel. Spermatogonia A dan cukup banyak tipe B terletak sepanjang membrana basalis. Selama tahap ini berlangsunglah pembelahan mitosis spermatogonia B membentuk spermatosit muda yang khas adalah pada stadium pakiten. Spermatid muda dan spermatozoa yang

belum matang tahap 18 tampak berada pada tahap VI. Spermatozoa muda ini cenderung melepaskan diri dari elemen sel Sertoli dan dijumpai pada level yang berbeda-beda, umumnya berada pada pertengahan antara lumen dan membrana basalis (Leblond and Clermot, 1952)

Tahap VII, diawali dengan tercapainya ukuran maksimal dari topi spermatid. Spermatogonia A jarang ditemukan, sedangkan tipe B telah membelah diri membentuk generasi baru spermatosit pada tahap VI. Spermatosit muda ini disebut *resting* spermatosit, yang terdapat sepanjang membrana basalis dengan inti mengandung pengelompokan kromatin yang gambarannya mirip dengan spermatogonia tipe B, hanya ukurannya lebih kecil. Spermatosit yang lebih tua terdapat dalam stadium pakiten. Lebih kearah tengah didapatkan spermatid muda dan spermatozoa muda telah meninggalkan *budlenya*. Spermatozoa muda tersusun sepanjang tepi lumen tubulus, tetapi tidak selalu teratur. Ekornya mengambang dan membentuk gambaran pusaran pada daerah lumen (Leblond and Clermont, 1952).

Tahap VIII, diawali dengan pengaturan letak sistem akrosom spermatid muda yang semuanya mengarah ke membrana basalis. Pada tahap ini tipe sel Sertoli jenis perpendikular mencapai puncaknya. Spermatogonia tipe A sudah jarang tampak, dan terdapat berselang-seling dengan spermatosit muda. Pada saat itu sel spermatosit muda meleburkan kromatinnya yang kelam menjadi



Gambar 2.2. Tahap-tahap spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel tertentu (baris). A = spermatogonia tipe A; In = spermatogonia intermedia; B = spermatogonia tipe B; R = spermatosit primer dalam tahap istirahat; L = spermatosit leptoten; Z = spermatosit zigoten; P2 (I)1, P2(VII)1, P2(XII)1 spermatosit sekunder, 1-19 tahapan spermatid dalam spermatogenesis (Tienhoven, 1983)

butiran halus. Lebih dekat ke arah lumen didapatkan suatu lapisan dari spermatosit pakiten, diikuti oleh spermatid dan akhirnya spermatozoa muda tahap 14 (Leblond and Clermont, 1952).

2.2. Steroidogenesis

Steroidogenesis adalah proses sintesa steroid, khususnya hormon testosteron dan derivatnya. Hormon steroid yang diproduksi oleh testis adalah androgen, sedangkan bagian terbesar dari androgen adalah testosteron. Secara umum androgen adalah hormon steroid yang mampu merangsang perkembangan serta mempertahankan fungsi normal dari organ reproduksi jantan.

Aktivitas spermatogenesis dikendalikan oleh interaksi hormonal yang disekresikan hipotalamus yaitu *gonadotropin releasing hormone* atau GnRH, hipofisa anterior yaitu gonadotropin : *luteinizing hormon* atau LH dan *follicle stimulating hormone* atau FSH, sel-sel Leydig yaitu androgen, sel-sel Sertoli yaitu inhibin (Ganong, 1993).

Gonadotropin releasing hormone bekerja pada hipofisa anterior, menstimulasi sekresi FSH dan LH. *Follicle stimulating hormone* bekerja pada sel Sertoli bersama-sama dengan androgen memelihara fungsi gametogenik testis. Inhibin yang dihasilkan oleh Sertoli dibawah pengaruh FSH memberikan umpan balik menghambat sekresi FSH. *Luteinizing hormon* bekerja pada sel Leydig

... dan ...
... dan ...
... dan ...

... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...

... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...
... dan ...

menstimulasi sekresi testosteron yang akan memberikan umpan balik menghambat sekresi LH (Ganong, 1993)

Fungsi androgen terutama pada tahap pembentukan spermatogonia dan untuk pembelahan meiosis kedua yang membentuk spermatid (Samuel et al, 1986 ; Ganong, 1993).

Hormon FSH mempunyai fungsi mendorong aktivitas spermatogenesis dengan menstimulasi pertumbuhan epitelium germinal tubulus seminiferus testis. Selain itu FSH juga mempengaruhi sel Sertoli dalam menghasilkan sejenis protein yaitu *Androgen Binding Protein* (ABP) yang mempunyai afinitas tinggi terhadap androgen sehingga testosteron dengan mudah memasuki sel target di dalam tubulus seminiferus. Oleh karena itu apabila ada gangguan transportasi testosteron maka akan terjadi hambatan pada proses meiosis (Hafez, 1993 ; Suhadi, 1979).

Testosteron yang terikat dengan ABP disekresikan kedalam kapiler darah, limfe atau masuk ke tubulus seminiferus melalui sel peritubuler. Testosteron masuk ke sel Sertoli melalui transport aktif atau difusi bersyarat (Hadley, 1992).

Testosteron juga berperan dalam perkembangan sifat kelamin sekunder (Ferdinandus, 1980). Didalam tubulus seminiferus testosteron diperlukan untuk perkembangan tahap awal dan akhir spermatogenesis (Hadley,1992), proliferasi dan diferensiasi sel germinal (Ross and Reith, 1985), sel spermatosit menjadi spermatid (Noris, 1980), dan pada tahap spermiogenesis (Ganong, 1993).



Penurunan kadar testosteron didalam tubulus seminiferus akan menyebabkan terjadinya gangguan meiosis pertama yaitu terbentuknya sel spermatosit sekunder sehingga pada akhirnya terjadi gangguan terbentuknya spermatid (Suhadi, 1979). Testosteron juga mempunyai peran fisiologis untuk menjaga peredaran darah mikrosirkulasi didalam testis. Hal ini dibuktikan dengan percobaan menggunakan injeksi *Ethanodimethylsulfonat* (EDS) untuk merusak aliran darah dalam testis, menyebabkan jumlah leukosit *polimorfonuklear* dan sel Leydig berkurang. Dengan menginjeksikan testosteron pada dosis tertentu maka aliran darah ke testis kembali normal dan jumlah sel-sel tersebut kembali pulih (Damber *et al*, 1992)

Didalam plasma, testosteron ditemukan lebih banyak dalam bentuk terikat dengan protein globulin yaitu kurang lebih 44%, sedangkan 54% terikat dengan albumin dan yang bebas hanya 2% (Speroff, 1994).

Testosteron seperti steroid lainnya mengawali aksinya dalam sel dengan membentuk kompleks ikatan dengan reseptor androgen yang berada di nukleus dan berikatan dengan reseptor. Terikatnya testosteron pada reseptor menyebabkan aktivasi kompleks reseptor-testosteron yang kemudian mampu mengikatkan diri pada *acceptor site* pada DNA. Kompleks ikatan tersebut teraktivasi dengan DNA menyebabkan terjadinya stimulasi atau represi transkripsi. Terbentuknya protein baru dibawah pengaruh testosteron menyebabkan terjadinya sejumlah aktivitas biologik (Hadley, 1992 ; Ganong, 1993).

Testosteron dapat dikonversi menjadi *dihydrotestosteron* (DHT) oleh *5 α -reduktase* pada sel target tertentu misalnya epididymis, vesikulaseminalis, prostat dan kelenjar keringat manusia, sebelum berikatan dengan reseptor androgen. Ikatan DHT-reseptor lebih stabil dibanding dengan ikatan testosteron-reseptor (Ganong, 1993).

Follicle stimulating hormone seperti halnya LH merupakan hormon glikoprotein mempunyai reseptor pada membran sel. Ikatan antara FSH-reseptor pada membran tersebut mengakibatkan peningkatan sintesa c-AMP dalam sitoplasma yang kemudian akan mengaktivasi *proteinkinase*, fosforilasi berbagai jenis protein dan mengakibatkan aktivasi berbagai fungsi sel Sertoli antara lain adalah sintesa ABP dan inhibin, hal ini didasarkan adanya penemuan bahwa FSH dapat merangsang sintesa RNA dan protein melalui mekanisme lain selain modifikasi aktivitas protein yang sudah ada dalam sel Sertoli (Tienhoven, 1983).

Androgen Binding Protein dengan stimulasi FSH, berfungsi sebagai *carrier* testosteron didalam sel Sertoli. Didalam lumen tubulus seminiferus, ABP menjaga konsentrasi testosteron tetap tinggi, agar spermatogenesis tetap berlangsung dan sebagai pengangkut testosteron dari testis ke epididymis (Tienhoven, 1983).

Follicle stimulating hormone selain merangsang sintesa inhibin juga meningkatkan sintesa glikoprotein permukaan sel yaitu berperan dalam adhesi antar sel Sertoli, meningkatkan jumlah reseptor androgen dalam sel Sertoli, memacu proliferasi spermatogonia dan membantu LH meningkatkan biosintesa androgen dalam sel Leydig (Hadley, 1992).

Dengan demikian FSH mempunyai pengaruh secara tidak langsung terhadap aktivitas spermatogenesis melalui pengaruhnya pada sel Sertoli sejak terjadinya proliferasi spermatogonia hingga terbentuknya spermatosit primer (Maekawa *et al.*, 1995) dan perkembangan tahap akhir spermatid menjadi spermatozoa (Ganong, 1993)

Secara histologis testis terdiri dari 250-300 lobuli, tersusun sebagai tubulus seminiferus yang dilapisi oleh sel-sel epitelium germinal di antara jaringan interstisial yang berisi jaringan ikat.

Menurut de Kretser (1995), bahwa pembagian yang sederhana untuk menilai kualitas spermatogenesis adalah sebagai berikut :

- *Slight, moderate* dan beberapa hipospermatogenesis, dimana semua komponen seluler spermatogenesis bisa dijumpai, tetapi secara progresif jumlahnya berkurang.
- *Germ cell arrest*, elemen seluler spermatogenesis awal masih bisa dijumpai dalam jumlah normal, tetapi pada tahap tertentu spermatogenesis hal ini terhenti. *Typical* ini bila terjadi pada tahap spermatosit primer, menunjukkan adanya defek pada proses meiosis.
- *Sertoli cell-only syndrome*, dimana hanya dijumpai tubulus-tubulus yang berisi sel-sel Sertoli saja, tanpa adanya sel-sel germinal. Oleh karena itu keadaan ini disebut juga dengan *germ cell aplasia*.
- Hialinisasi, tampak adanya akumulasi bahan amorph diantara epitelium seminiferus dan sel-sel peritubuler. Semua sel dalam tubulus sudah

dan hanya tampak dinding tubulusnya saja yang menebal. Keadaan ini sering dijumpai pada *Klinefelter's syndrome*. Peritubuler fibrosis adalah proliferasi yang berlebihan dari lamina propria tubulus seminiferus.

- *Immature testis*, gambarannya mirip seperti testis anak laki-laki normal pra pubertas.

Gambaran histopatologis lain yang kadang-kadang bisa dijumpai adalah :

- *Multiple mixed lesion*, dalam hal ini dijumpai berbagai macam kelainan : hialinisasi, *Sertoli cell only syndrome*, gangguan spermatogenesis yang dapat tampak sebagai *sloughing* (penanggalan), disorganisasi dan *spermatogenic arrest*. Gambaran demikian ini mungkin merupakan tahap antara dari tubuler hialinisasi.
- *Intratubular malignant germ cells (Carcinoma In situ)*, sel-selnya menjadi *atypical*, intinya membesar sampai 2 kali ukuran normal spermatogonia, kromatin kasar bergerombol, anak intinya jelas dan sitoplasmanya bervakuola.
- *Sloughing* dan disorganisasi sel germinal, dimana sel-sel germinal yang lebih matang dini terlepas dari epitelium seminiferusnya dan didapatkan dalam lumen, sedangkan sel-sel germinal dan lapisan basal masih *intact*. Sel-sel yang terlepas ini bisa menyebabkan obstruksi parsial. Gambaran ini bisa disertai dengan disorganisasi susunan sel-sel germinal, hal ini sering dijumpai pada penderita varikokel.

2.3. Temperatur dan Spermatogenesis

Spermatogenesis pada mamalia dapat berlangsung bila temperatur testis berada dibawah temperatur dalam tubuh. Kenaikan temperatur beberapa derajat saja sudah menghambat spermatogenesis. Dikatakan oleh Marlinata dkk (1980) bahwa orang-orang yang bekerja di lingkungan temperatur tinggi gambaran spermiogramnya jelek sekali dan dapat diperbaiki dengan meninggalkan pekerjaan tersebut.

Kejadian infertilitas pada penderita varikokel, kriptorkid dan demam adalah karena hipertermi yang dapat menyebabkan *germ cell loss* dan azoospermia. Rata-rata perbedaan temperatur penderita varikokel yang besar dengan pria yang normal adalah 2°C (Morgentaler *et al*, 1999) Sedangkan varikokel merupakan 24% penyebab infertilitas pada pria.

Proses spermatogenesis memerlukan kerja optimal dari hormon-hormon seks dan enzim pada lingkungan dengan temperatur sedikit lebih rendah dari temperatur tubuh normal, peningkatan beberapa derajat saja dari temperatur intraskrotum dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis. Stephen (1993), mengatakan bahwa pada temperatur $0-40^{\circ}\text{C}$ sedikit efeknya pada struktur dan aktivitas enzim, sedangkan pada temperatur lebih dari 40°C kecepatan katalisanya mulai turun hingga mencapai denaturasi. Denaturasi akibat meningkatnya temperatur melebihi temperatur optimal akan diikuti dengan hilangnya aktivitas katalik enzim.

Tahap sel germinal yang paling peka terhadap panas adalah spermatosit primer dan spermatid awal. Gangguan yang terjadi pada tahap tersebut dapat menimbulkan *germ cell loss*. Sedangkan pada eksperimen kriptorkid menunjukkan bahwa spermatogonia relatif resisten terhadap panas dibandingkan tipe sel germinal lainnya (Morgentaler *et al*, 1999).

Mekanisme pengaruh panas terhadap *germ cell loss* terjadi melalui apoptosis (Yizhong Yin *et al*, 1997). Salah satu manifestasi seluler yang terjadi akibat ekspos panas adalah kondensasi komponen nukleus, diakhiri dengan piknosis spermatosit dan spermatid awal dan terbentuknya *multi nucleated giant cells* (MGC) (Morgentaler *et al*, 1999). Piknosis merupakan sifat morfologi yang spesifik dari apoptosis (Wyllie *et al*, 1980). Teknik molekuler menyatakan bahwa, apoptosis karakteristik dengan adanya fragmentasi DNA (Yin *et al*, 1997b).

Menurut Davis and Firlit (1966), testis yang diekspos dengan suhu tinggi karakteristik dengan adanya vakuolisasi didalam epitelium germinal. Demikian pula dilaporkan oleh Yizhong Yin (1997), bahwa vakuola diduga merupakan tempat yang menggambarkan sel germinal yang mengalami apoptosis. Derajat vakuolisasi bervariasi dalam proporsi jumlah sel yang mengalami apoptosis didalam tubulus seminiferus.

Gen p53 berperan dalam induksi *germ cell* apoptosis dan *cell cycle arrest* yang diakibatkan oleh stres panas. p53 adalah gen supresor tumor yang mengatur proliferasi dan diferensiasi sel, mencegah terjadinya malignansi dan mempunyai

fungsi dasar *blocking* protein yang menginduksi siklus sel (Yin *et al*, 1998; Schwart *et al*, 1993). Gen p53 dikenal sebagai "*guardian of the genome*" yaitu secara normal respon gen p53 terhadap kerusakan DNA dalam sel ada beberapa cara : 1). p53 bekerja sebagai *transcription factor*, menstimulasi sintesis protein 21 kDa yang *blocking cyclin dependent kinase*(Cdks) dari interaksinya dengan protein *cyclin*. Ketika terjadi kerusakan DNA, memberi kesempatan sel untuk memperbaiki kerusakan sehingga tidak terjadi kesalahan genetik pada anak selnya. 2) jika gagal memperbaiki kerusakan DNA, p53 dapat memicu kerusakan sel untuk mengalami apoptosis atau *programmed cell death*, sebelum abnormalitas genetik diturunkan, 3) p53 juga menstimulasi reparasi DNA, bekerja baik secara langsung dan tidak langsung melalui protein lain. Mutasi pada gen p53 tidak hanya menyebabkan kurangnya efek protektif, tetapi juga menstimulasi pertumbuhan sel yang abnormal (Wayne *et al*, 1996).

Pada kejadian varikokel maupun kriptorkid efek langsung panas pada sel germinal adalah akibat dari berkurangnya kadar testosteron intratestikuler yang disebabkan gangguan fungsi sel Leydig (Su *et al*, 1995; Keel *et al*, 1993; Sharpe *et al*, 1986; Ohta *et al*, 1996) dan testosteron *withdrawl* menginduksi germ cell apoptosis (Tapanainen *et al*, 1993; Troiano *et al*, 1994).

Testis tikus yang dibuat kriptorkid sehingga testis berada pada temperatur abdomen yaitu 37⁰C secara terus menerus terjadi apoptosis pada hari ke 7 (Yin *et al*, 1997).

Aktivitas enzim *m-rec* dalam meiosis tikus 5 kali lebih tinggi pada temperatur testis 33⁰ C dari pada temperatur 37⁰C. Peranan enzim tersebut selama replikasi kromosom dan tahap meiosis I leptoten tidak berarti. Pada tahap *pairing*, zigoten aktivitasnya mulai meningkat; mendekati meningkat tajam, mencapai puncak pada awal; menurun tajam setelah mencapai *mid-pakiten*. Pada studi berikutnya di temukan bahwa akibat reduksi aktivitas enzim *m-rec* dalam jumlah banyak dapat terjadi gangguan *pairing* kromosom (Stephen , 1993).

Dibuktikan bahwa pemaparan testis dengan temperatur abdominal seperti kriptorkid dapat menyebabkan *germ cell loss*, yang dapat menyebabkan penurunan fertilitas dan bahkan dapat terjadi sterilitas. Stadium sel germinal yang peka terhadap stress panas terutama pada tahap leptotene, zigotene, pakiten spermatosit primer dan pada spermatid beberapa saat setelah meiosis kedua. *Germ cell loss* pada testis karena pengaruh peningkatan temperatur terjadi melalui apoptosis (Yinzhong Yin *et al*, 1997).

Dalam jumlah yang sedikit dapat terjadi kerusakan sel germinal pada testis secara spontan terutama saat fase spermatogonia melalui apoptosis. Hal ini merupakan kontrol homeostatik terhadap jumlah sel dan merupakan hasil *dynamic balance* antara proliferasi dan kematian sel, yang salah satunya melalui apoptosis (Kerr and Knell, 1992).

Gambaran histologis dari testis tikus yang dibuat kriptorkid, tampak vakuola-vakuola pada sel germinal yang akan mengalami apoptosis. Gambaran vakuola dalam sel germinal tersebut khas untuk testis yang *dipemaparan* dengan stres temperatur. Disamping itu juga terhadap *multinucleated giant cell* (Yizhong yin *et al*, 1997).

2.4. Perlindungan Sel Terhadap Peningkatan Temperatur

Perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan bagi kehidupan organisme terhadap stress peningkatan temperatur, logam berat, alkohol, anoksia dan sebagainya, akan menyebabkan sel mensintesa *heat shock protein* (HSP). Namun demikian HSP tidak hanya disintesa oleh sel-sel dalam kondisi stres tetapi juga oleh sel-sel pada kondisi normal pada saat siklus sel, masa pertumbuhan dan diferensiasi sel (Lindquist dan Gray, 1981 ; Tanguay, 1985; Nover, 1991). HSP berfungsi melindungi sel dari kerusakan oleh panas serta meningkatkan aktivitas sel normal setelah masa stres yaitu dengan pemulihan pelipatan protein (*refolding*) dari protein yang mengalami denaturasi, mencegah terjadinya presipitasi didalam mengalami denaturasi, mencegah terjadinya presipitasi didalam sel, translokasi dan degradasi protein sehingga dapat mempertahankan homeostasis sel (Pelham, 1986; Welch, 1993; Lodish *et al*, 1993). Disamping itu HSP juga merupakan stimulus yang menyebabkan terjadinya apoptosis (Ramzi *et al*, 1994; Pelham, 1986; Welch, 1993).

Setelah stres temperatur, HSP 70 adalah yang banyak dihasilkan, terkumpul dalam struktur inti yaitu di nukleolus, nukleolus menghasilkan ribosom yaitu organel yang mensintesis protein. Sel-sel akan berhenti membuat ribosom, sebagai gantinya nukleolus menjadi terapung. Kadar tinggi dari HSP 70 juga ditemukan pada sel germinal testis, mempunyai peranan penting dalam diferensiasi sel mieloid, kontrol dalam siklus sel dan efek proteksi pada *induced* apoptosis (Kwak *et al*, 1998; Welch, 1993; Tanguay, 1993).

Pada sintesa HSP 70 *Drosophila*, transkripsi dirangsang oleh *heat shock* mulai dari temperatur basal sampai dengan level temperatur tinggi. Pada saat tidak ada *heat shock*, RNA polimerase II kerjanya terhenti setelah mentranskrip sedikit HSP 70. Dengan adanya *heat shock*, *Heat Shock Transcription Factor* (HSTF) berubah dari inaktif menjadi aktif dan berikatan dengan elemen spesifik yang kemudian membuka kembali kerja RNA polimerase yang terhenti, sehingga transkripsi HSP 70 berlanjut. Mekanisme yang menyebabkan kerja RNA polimerase terhenti, sampai saat ini belum diketahui (Lodish *et al*, 1995).

Dalam keadaan sehat atau tidak stres, HSP 70 merupakan protein-protein yang belum matang dan hanya bersifat sementara, serta merupakan ATP yang *dependent*. Namun dibawah kondisi stres metabolik, baru disintesis protein-protein yang mengalami masalah dalam pematangan secara normal, dan protein-protein tersebut tetap terikat dengan pengantar HSP 70. Dalam hal ini HSP 70 berpartisipasi dalam langkah-langkah awal pada pematangan protein (Welch, 1993).

2.5. Penentuan Hewan Percobaan

Pada penelitian ini digunakan salah satu hewan coba yaitu mencit jantan.

Penentuan ini didasarkan atas :

1. Mencit merupakan salah satu hewan coba yang dapat digunakan untuk mengetahui potensi reproduksi pria selain kelinci.
2. Mudah berkembang biak masa hidupnya pendek, berat badan hanya beberapa puluh gram dan biaya perawatannya relatif ringan.
3. Masa pubertasnya 30 ± 35 hari.
4. Perkembangan epitelium seminiferus dapat lebih jelas terlihat, sehingga dapat mengetahui fungsi normal testis.
5. Harganya murah, mudah beradaptasi dengan kandang dan lingkungan sekitarnya.
6. Makanan mencit berupa pelet telah disusun oleh pabrik dan memenuhi persyaratan.
7. Testis mencit mempunyai struktur histologis yang mirip dengan testis manusia
8. Banyak peneliti yang memakai mencit sebagai hewan percobaan termasuk uji biologik pengaruh hormon pada sistem reproduksi mencit jantan.
9. Tersedia pustaka tentang mencit sehingga memudahkan dalam menjelaskan landasan teori dan perubahannya.

BAB 3

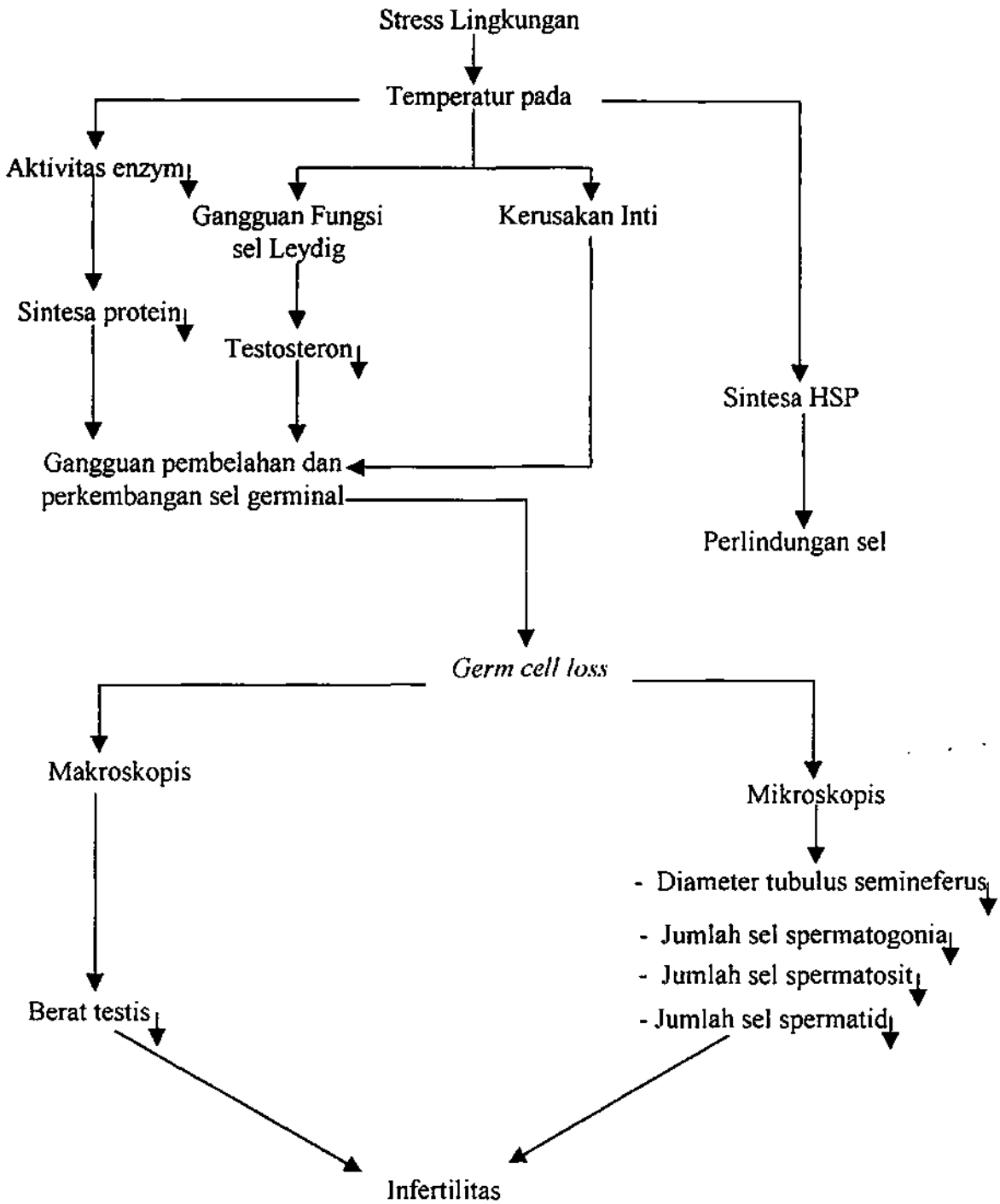
KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Landasan Teori

- 3.1.1. Stres lingkungan berupa pemaparan temperatur tinggi pada testis akan mempengaruhi proses spermatogenesis.
- 3.1.2. Pemaparan temperatur tinggi menyebabkan penurunan aktivitas enzim yang diperlukan dalam sintesa protein terutama di dalam testis untuk pembentukan, pertumbuhan dan perkembangan sel-sel germinal.
- 3.1.3 Pemaparan temperatur tinggi juga menyebabkan gangguan fungsi Leydig yang diikuti dengan penurunan kadar hormon testosteron.
- 3.1.4 Pemaparan temperatur tinggi dapat mengakibatkan disintesisnya *heat shock protein* (HSP) sebagai mekanisme perlindungan sel.
- 3.1.5 Pemaparan temperatur tinggi menyebabkan kerusakan inti sel-sel germinal.
- 3.1.6 Akibat menurunnya sintesa protein, kadar hormon testisteron dan kerusakan inti sel-sel germinal (sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatid) akan menyebabkan gangguan perkembangan sel-sel germinal yang pada akhirnya akan meyebabkan *germ cell loss*.
- 3.1.7 *Germ cell loss* secara makroskopis dapat diamati dari penurunan berat testis.

- 3.1.8 *Germ cell loss* secara mikroskopis dapat diamati dengan adanya penurunan ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid.
- 3.1.9 Penurunan berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah spermatid dapat menimbulkan terjadinya infertilitas.

3.2. Skema Kerangka Konseptual Penelitian



3.3. Hipotesis Penelitian

Pemaparan testis mencit jantan dengan temperatur 39° , 40° , 41° C setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari :

1. Ada pengaruh temperatur pemaparan terhadap proses spermatogenesis.
2. Ada pengaruh lama pemaparan terhadap proses spermatogenesis.
3. Terdapat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan terhadap proses spermatogenesis .
4. Pada 35 hari setelah akhir pemaparan temperatur terjadi pemulihan proses spermatogenesis.

Spermatogenesis dalam hal ini diwakili oleh pengamatan terhadap :

- a. Berat testis
- b. Diameter tubulus seminiferus
- c. Jumlah sel spermatogonia
- d. Jumlah sel spermatosit primer
- e. Jumlah sel spermatid

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian *True experimental* yang dilakukan didalam Laboratorium.

4.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan factorial, dengan perlakuan sebagai berikut :

A. Pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan

- I. K_I : Kelompok kontrol pemaparan temperatur selama sehari (tanpa pemaparan temperatur)
- P_{I-1} : Kelompok pemaparan temperatur 39°C setengah jam setiap hari selama sehari
- P_{I-2} : Kelompok pemaparan temperatur 40°C setengah jam setiap hari selama sehari
- P_{I-3} : Kelompok pemaparan temperatur 41°C setengah jam setiap hari selama sehari.

- II. K_{II} : Kelompok kontrol, pemaparan panas selama 4 hari
- P_{II-1} : Kelompok perlakuan, pemaparan panas temperatur 39°C setengah jam setiap hari selama 4 hari.
- P_{II-2} : Kelompok pemaparan temperatur 40°C setengah jam setiap hari selama 4 hari.
- P_{II-3} : Kelompok pemaparan temperatur 41°C setengah jam setiap hari selama 4 hari.
- III. K_{III} : Kelompok kontrol, pemaparan temperatur selama 7 hari..
- P_{III-1} : Kelompok pemaparan temperatur 39°C setengah jam setiap hari selama 7 hari
- P_{III-2} : Kelompok pemaparan temperatur 40°C setengah jam setiap hari selama 7 hari
- P_{III-3} : Kelompok pemaparan temperatur 41°C setengah jam setiap hari selama 7 hari
- B. Pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
- KR_1 : Kelompok kontrol pemaparan temperatur selama 1 hari (tanpa pemaparan temperatur)
- PR_{1-1} : Kelompok pemaparan temperatur 39°C setengah jam setiap hari selama 1 hari
- PR_{1-2} : Kelompok pemaparan temperatur 40°C setengah jam setiap hari selama 1 hari

PR_{I-3} : Kelompok Perlakuan, pemaparan temperatur 41⁰C setengah jam setiap hari selama 1 hari.

II. KR_{II} : Kelompok kontrol, pemaparan temperatur selama 4 hari

PR_{II-1} : Kelompok perlakuan, pemaparan temperatur 39⁰C setengah jam setiap hari selama 4 hari.

PR_{II-2} : Kelompok pemaparan temperatur 40⁰C setengah jam setiap hari selama 4 hari.

PR_{II-3} : Kelompok pemaparan temperatur 41⁰C setengah jam setiap hari selama 4 hari.

III. KR_{III} : Kelompok kontrol, pemaparan temperatur selama 7 hari.

PR_{III-1} : Kelompok pemaparan temperatur 39⁰C setengah jam setiap hari selama 7 hari

PR_{III-2} : Kelompok pemaparan temperatur 40⁰C setengah jam setiap hari selama 7 hari

PR_{III-3} : Kelompok pemaparan temperatur 41⁰C setengah jam setiap hari selama 7 hari

Faktor A : Temperatur perlakuan

K = Kontrol (tanpa perlakuan)

P₁ = Temperatur 39⁰C

P₂ = Temperatur 40⁰C

P₃ = Temperatur 41⁰C

Faktor B : Lamanya pemaparan temperatur

- 1 = Pemaparan temperatur setengah jam setiap hari selama 1 hari
- 2 = Pemaparan temperatur setengah jam setiap hari selama 4 hari
- 3 = Pemaparan temperatur setengah jam setiap hari selama 7 hari.

4.3. Sampel penelitian

Digunakan mencit jantan yang diperoleh dari laboratorium PUSVETMA Surabaya, umur ± 2 bulan, dengan alasan secara seksual telah dewasa dan perubahan berat badan selama penelitian relatif kecil.

4.3.1. Estimasi besar sampel

n : Jumlah sampel = 8

r : Jumlah replikasi/perlakuan = 4

$$n = \frac{(z_{\alpha/2} + z_{\beta/2})^2 D^2}{\delta^2} \text{ (Steel dan Torrie, 1991)}$$

Dengan menganggap populasi berdistribusi normal dan perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan mempunyai perbedaan (D sebesar 1 δ 1 standart deviasi) sehingga $D^2/\delta^2 = 1$ serta bila $\alpha = 0,05$, $\beta = 0,20$ maka diperoleh $z_{\alpha/2} = 1,96$ dan $z_{\beta/2} = 0,842$. selanjutnya diperoleh $n = (1,96 + 0,842)^2 \cdot (1)^2 = 7,8 = 8$

4.3.2. Cara Pengambilan Sampel

Digunakan metoda *simple random sampling* karena walaupun cara pemeliharaan dan perawatan mencit telah diusahakan sama dalam hal pakan, situasi kandang, jenis dan spesies, umur tetapi masih terdapat perbedaan berat badan (Hume, 1972).

Pengambilan sampel secara random pada mencit jantan umur ± 2 bulan sebanyak 100 ekor diberi nomor 1-100 ekor kemudian dipilih 96 ekor untuk kelompok perlakuan dengan menggunakan tabel random (Snedector *et al*, 1967).

4.4. Variabel penelitian

4.4.1. Klasifikasi variabel

1. Variabel bebas : adalah lama pemaparan testis mencit dengan temperatur 39° , 40° , 41°C setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari.
2. Variabel tergantung : adalah berat testis dan proses spermatogenesis yang diamati secara langsung dengan menghitung jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatid.
3. Variabel kendali : adalah strain, jenis kelamin, kandang, pakan dan perawatan mencit selama penelitian serta cara pemeriksaan histologis.
4. Variabel moderator : berat badan, umur.

4.4.2. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel bebas

- Lamanya pemaparan dengan temperatur 39⁰ , 40⁰ ; 41⁰C adalah setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari. Pemaparan temperatur dilakukan dengan merendam testis yaitu bagian ventral mencit dalam bak berisi air dengan temperatur 39⁰ ; 40⁰ ; 41⁰C dikontrol dengan termostat dan arloji. Setelah pemaparan temperatur selama setengah jam setiap hari dikembalikan ke kandang masing-masing.

2. Variabel tergantung

- Berat testis : adalah berat rata-rata testis masing-masing mencit yang diukur dengan timbangan miligram.
- Pengamatan secara langsung proses spermatogenesis dengan menimbang berat testis, mengukur diameter tubulus seminiferus, menghitung jumlah sel spermatogonia, spermatisit primer dan spermatid.

3. Variabel kendali

- Strain atau spesies *Mus musculus* umur 2 bulan dihitung sejak lahir sampai diberi pemaparan.
- Jenis kelamin jantan
- Makanan berupa pelet yang diproduksi oleh pabrik dan telah memenuhi persyaratan untuk kebutuhan pertumbuhannya.
- Kondisi kandang, cara perawatan dan jenis pakan semua sama.

- Cara pemeriksaan histologis adalah dengan menggunakan mikroskop binokuler merk canon Alphaphot Ys, memakai okuler mikrometer pembesaran 10 kali dan obyektif pembesaran 20 kali.

4. Variabel moderator

- Umur mencit dihitung sejak lahir sampai dengan diberi perlakuan yaitu ± 2 bulan karena secara seksual mencit telah dewasa dan berat badan relatif stabil.
- Berat badan $\pm 25 - 30$ gram.

4.5. Material

1. Hewan percobaan

Tikus jantan dari strain *Mus musculus*, umur ± 2 bulan sebanyak 96 ekor diperoleh dari Lab. PUSVETMA Surabaya.

2. Bahan

Untuk sediaan histologis dengan pengecatan *Hematoksin Eosin* yaitu larutan fiksatif Bouin's dengan komposisi asam pikrat jenuh, formalin dan asam asetat dengan perbandingan 15:5:1. Formalin 10%, aquadest, alkohol 70%, xylol, parafin cair dan pewarnaan *Hematoksin Eosin*.

3. Alat-alat

- Kandang mencit dilengkapi dengan tempat makan dan minum.
- Peralatan pemaparan temperatur berupa bak, kurungan, thermostat dan arloji.
- Timbangan untuk mengukur berat testis.
- Peralatan bedah gunting, skalpel, pinset dan papan bedah.

- Alat untuk membuat preparat histologis yaitu Autotechnicon, mikrotom putar, jarum khusus ujungnya bundar.
- Mikroskop binokuler.

4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Biokimia dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dimulai bulan September sampai Desember 2000.

4.7. Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan

- Penyediaan dan adaptasi hewan percobaan
- Penyediaan peralatan pemaparan temperatur pada testis.
- Penyediaan bahan-bahan untuk pemeriksaan histologis.

2. Tahap pengelompokan

Hewan percobaan : mencit jantan sebanyak 96 ekor dibagi menjadi 2 sub kelompok masing-masing terdiri dari 48 ekor, tiap sub kelompok dibagi lagi menjadi 12 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor.

3. Tahap Pemaparan temperatur pada testis

Pemaparan temperatur dilakukan dengan jalan merendam testis atau bagian ventral mencit dalam bak berisi air dengan temperatur 39° , 40° , 41°C , dikontrol dengan thermostat dan arloji. Pemaparan temperatur dilakukan selama

30 menit setiap hari, setelah selesai pemaparan dikembalikan ke kandang masing-masing dengan temperatur kamar. Pengamatan dilakukan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

4. Pengambilan testis

Setelah pemaparan temperatur, mencit dibunuh dan diambil testisnya, dibersihkan dari jaringan sekitarnya, kemudian ditimbang dan dimasukkan dalam larutan Bouin's 10%.

5. Pembuatan preparat histologis (pada lampiran 31).

6. Tahap pengumpulan data

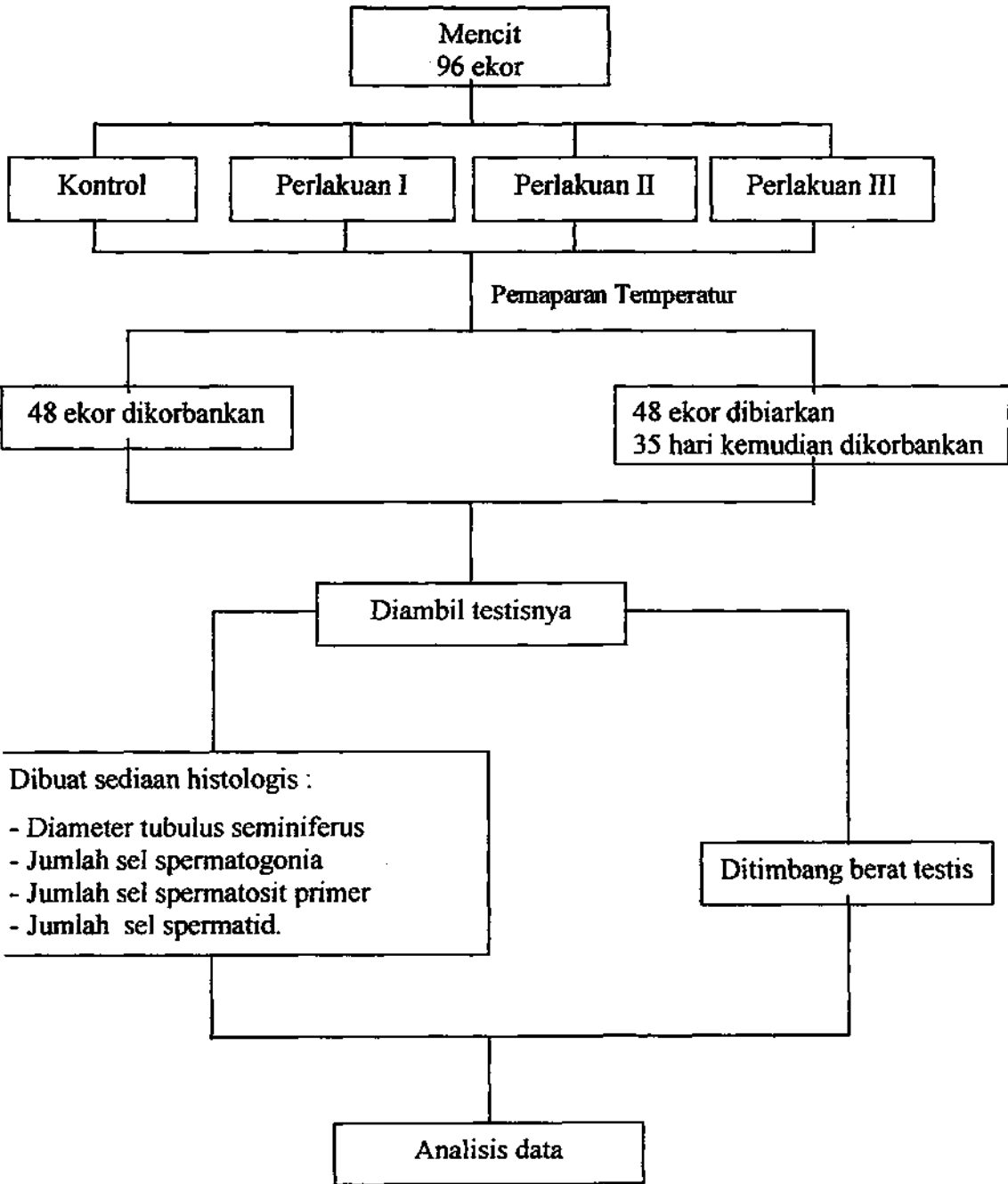
- Berat testis : testis ditimbang dalam timbangan miligram kemudian antar-kelompok kontrol dan pemaparan dirata-rata dan dibandingkan.

Dari pemeriksaan secara histologis dilakukan pengukuran diameter tubulus seminiferus, penghitungan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatid baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan kemudian dibandingkan.

4.8. Teknik Analisis Data

Analisis data menggunakan uji Analisis Varians dua arah dengan derajat kemaknaan 0,05. Apabila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (Steel dan Torrie, 1991).

4.9. Diagram alur penelitian



BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN**

Untuk menguji hipotesis bahwa pemaparan temperatur menghambat spermatogenesis pada mencit jantan, maka dilakukan pengamatan yang diwakili oleh :

1. Berat testis
2. Diameter tubulus seminiferus
3. Jumlah sel spermatogonia
4. Jumlah sel spermatosit primer
5. Jumlah sel spermatid

5.1 Berat Testis

Data lengkap hasil penimbangan berat testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan secara berturut-turut terdapat pada lampiran 1 dan lampiran 4. Rangkuman rata-rata hasil penimbangan berat testis pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan terdapat pada tabel 5.1, tabel 5.2 dan tabel 5.3.

Tabel 5.1 Rata-rata berat testis pada mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram) akibat pengaruh lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
1 hari	0,1240 a	0,1260 a
4 hari	0,0958 b	0,0972 b
7 hari	0,0701 c	0,0753 c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$)

Pemaparan temperatur selama sehari, 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan menyebabkan penurunan berat testis secara bermakna. Makin lama pemaparan berat testis semakin menurun

Tabel 5.2 Rata-rata berat testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram) akibat pengaruh temperatur, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
Kontrol	0,1260 a	0,1290 a
39 ⁰ C	0,0920 b	0,0958 b
40 ⁰ C	0,0864 c	0,0924 b
41 ⁰ C	0,0819 d	0,0806 c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰ dan 41⁰ C menyebabkan penurunan berat testis secara bermakna. Makin tinggi temperatur pemaparan, berat testis semakin menurun pada 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Antar kelompok pemaparan temperatur 39⁰C dan 40⁰C pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna.

Hasil uji Analisis Varians yang dilanjutkan dengan uji BNT terhadap rata-rata berat testis :

Terdapat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan secara bermakna terhadap proses spermatogenesis, yaitu semakin tinggi temperatur dan semakin lama pemaparan spermatogenesis semakin menurun pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Antar pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰, 41⁰C selama 1 hari dan 4 hari tidak berbeda secara bermakna. Antar pemaparan temperatur 40⁰C dan 41⁰C pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan tidak

berbeda secara bermakna. Antar pemaparan temperatur 39°C dan 40°C pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna

Tabel 5.3. Rata-rata berat testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram) akibat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
1 hari	Kontrol	0,1260 a	0,1260 a
	39°C	0,1220 a	0,1290 a
	40°C	0,1220 a	0,1270 a
	41°C	0,1250 a	0,1210 a
4 hari	Kontrol	0,1270 a	0,1310 a
	39°C	0,0916 b	0,0943 b
	40°C	0,0867 b	0,0863 b
	41°C	0,0773 b	0,0725 b
7 hari	Kontrol	0,1240 a	0,1300 a
	39°C	0,0620 c	0,0643 c
	40°C	0,0506 d	0,0638 c
	41°C	0,0435 d	0,0434 d

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

5.2 Diameter tubulus seminiferus

Data lengkap hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan secara berturut-turut terdapat pada lampiran 7 dan lampiran 10. Rangkuman rata-rata ukuran diameter tubulus seminiferus pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan disajikan pada tabel 5.4, tabel 5.5 dan tabel 5.6.

Tabel 5.4 Rata-rata hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Pengamatan 1 hari Setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
1 hari	162,225 a	173,250 a
4 hari	139,456 b	145,994 b
7 hari	136,362 b	142,531 b

Yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur selama sehari, 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan menyebabkan penurunan ukuran diameter tubulus seminiferus secara bermakna. Makin lama pemaparan ukuran diameter tubulus seminiferus makin menurun. Antar pemaparan selama 4 hari dan 7 hari tidak berbeda secara bermakna.

Tabel 5.5 Rata-rata hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
Kontrol	169,575 a	178,383 a
39 ⁰ C	149,533 b	160,992 b
40 ⁰ C	142,450 c	153,650 c
41 ⁰ C	122,500 d	122,675 d

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰ dan 41⁰C pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan menyebabkan penurunan ukuran diameter tubulus seminiferus secara bermakna. Makin tinggi temperatur pemaparan ukuran diameter tubulus seminiferus semakin menurun

Tabel 5.6 Rata-rata hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pengamatan
1 hari	Kontrol	168,525 a	180,075 a
	39 ⁰ C	163,275 a	175,375 a
	40 ⁰ C	159,600 ab	171,675 ab
	41 ⁰ C	157,500 ab	165,375 ab
4 hari	Kontrol	167,475 a	177,100 a
	39 ⁰ C	148,850 b	159,600 ab
	40 ⁰ C	138,075 c	148,575 b
	41 ⁰ C	103,425 d	98,700 c
7 hari	Kontrol	172,725 a	177,975 a
	39 ⁰ C	136,475 c	147,500 b
	40 ⁰ C	129,675 c	140,700 b
	41 ⁰ C	106,576 d	103,950 c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Hasil uji Analisis Varians yang dilanjutkan dengan uji BNT terhadap rata-rata ukuran diameter tubulus seminiferus :

Semakin tinggi temperatur dan semakin lama pemaparan ukuran diameter tubulus seminiferus semakin menurun pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Antar pemaparan temperatur 40⁰C dan 41⁰C selama 1 hari pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Antar pemaparan temperatur 40⁰, 41⁰ C selama 1 hari dan 39⁰ C selama 4 hari pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Antar pemaparan temperatur 40⁰C selama 4 hari dan 39⁰, 40⁰ C selama 7 hari tidak berbeda secara bermakna. Antar pemaparan temperatur 41⁰ C selama 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna.

5.3 Jumlah sel spermatogonia

Data lengkap hasil penghitungan jumlah sel spermatogonia testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan secara berturut-turut terdapat pada lampiran 13 dan lampiran 16. Rangkuman rata-rata jumlah sel spermatogonia pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan disajikan pada tabel 5.7, tabel 5.8 dan tabel 5.9.

Tabel 5.7 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatogonia testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
1 hari	33,113 a	38,706 a
4 hari	20,669 b	27,081 b
7 hari	16,933 c	22,042 c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur selama sehari, 4 hari dan 7 hari menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Makin lama pemaparan jumlah sel spermatogonia semakin menurun.

Tabel 5.8 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatogonia testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
Kontrol	36,275 a	46,192 a
39 ⁰ C	21,717 b	27,508 b
40 ⁰ C	17,358 c	20,200 c
41 ⁰ C	19,937 d	23,788 d

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰ dan 41⁰C menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Makin tinggi temperatur pemaparan jumlah sel spermatogonia semakin menurun.

Tabel 5.9 Rata-rata jumlah sel spermatogonia testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama perlakuan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
1 hari	Kontrol	35,375 a	44,525 a
	39 ⁰ C	36,125 a	42,625 a
	40 ⁰ C	33,300 b	36,000 b
	41 ⁰ C	27,650 c	31,675 c
4 hari	Kontrol	35,625 a	45,050 a
	39 ⁰ C	19,050 d	25,125 d
	40 ⁰ C	15,775 e	22,250 d
	41 ⁰ C	12,225 f	15,900 f
7 hari	Kontrol	37,825 g	49,000 g
	39 ⁰ C	9,975 h	14,775 af
	40 ⁰ C	3,000 i	2,350 i
	41 ⁰ C	a	a

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$)

a = tidak teramati

Hasil uji Analisis Varians yang dilanjutkan dengan uji BNT terhadap rata-rata jumlah sel spermatogonia :

Terdapat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan secara bermakna terhadap proses spermatogenesis. Semakin tinggi dan semakin lama pemaparan spermatogenesis semakin menurun pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Antar kelompok kontrol, pemaparan temperatur 39⁰C selama 1 hari dan kontrol pemaparan temperatur selama 4 hari pada

pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Antar kontrol pemaparan selama 1 hari, pemaparan temperatur 39°C selama 1 hari dan kontrol pemaparan selama 4 hari pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Antar pemaparan temperatur 39°C dan 40°C selama 4 hari pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Pada pemaparan temperatur 41°C selama 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak teramati adanya sel spermatogonia.

5.4 Jumlah sel spermatosit primer

Data lengkap hasil penghitungan jumlah sel spermatosit primer testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan secara berturut-turut terdapat pada lampiran 19 dan lampiran 22. Rangkuman rata-rata jumlah sel spermatosit primer pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan disajikan pada tabel 5.10, tabel 5.11 dan tabel 5.12.

Tabel 5.10 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatosit primer testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan .

Lama pemaparan temperatur	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
1 hari	14,558 a	17,869 a
4 hari	9,500 b	12,363 b
7 hari	8,308 c	10,492 c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur selama sehari, 4 hari dan 7 hari menyebabkan penurunan jumlah sel spermatosit primer secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Makin lama pemaparan jumlah sel spermatosit primer makin menurun.

Tabel 5.11 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatosit primer testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari Setelah akhir pemaparan
Kontrol	18,075 a	20,083 a
39 ⁰ C	9,583 b	13,675 b
40 ⁰ C	7,283 c	9,733 b
41 ⁰ C	8,163 d	10,962 d

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰ dan 41⁰C menyebabkan penurunan jumlah sel spermatosit primer secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Semakin tinggi temperatur pemaparan semakin menurun jumlah sel spermatosit primer. Antar pemaparan temperatur 39⁰C dan 40⁰C pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna

Hasil uji Analisis Varians yang dilanjutkan dengan uji BNT terhadap rata-rata jumlah sel spermatosit primer :

Semakin tinggi temperatur dan semakin lama pemaparan, jumlah sel spermatosit primer semakin menurun secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Antar kelompok kontrol pemaparan temperatur selama sehari, 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Antar kelompok kontrol dan

pemaparan temperatur selama 1 hari, kontrol pemaparan selama 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Pada kelompok pemaparan temperatur 41⁰C selama 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak teramati adanya sel spermatosit primer.

Tabel 5.12 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatosit primer testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat interaksi antara pengaruh temperatur dan lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
1 hari	Kontrol	17,925 a	20,100 a
	39 ⁰ C	14,650 b	19,050 a
	40 ⁰ C	13,850 c	17,050 b
	41 ⁰ C	11,800 d	15,275 c
4 hari	Kontrol	18,025 a	19,550 a
	39 ⁰ C	9,075 e	12,375 d
	40 ⁰ C	6,375 f	10,875 e
	41 ⁰ C	4,525 g	6,650 f
7 hari	Kontrol	18,275 a	20,600 a
	39 ⁰ C	5,025 g	9,600 g
	40 ⁰ C	1,625 h	1,275 h
	41 ⁰ C	a	a

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$)
a = tidak teramati

5.5 Jumlah sel spermatid

Data lengkap hasil penghitungan jumlah sel spermatid testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan secara berturut-turut terdapat pada lampiran 25 dan lampiran 28. Rangkuman rata-rata jumlah sel spermatid pada pengamatan 1 hari

dan 35 hari setelah akhir pemaparan disajikan pada tabel 5.13, tabel 5.14 dan tabel 5.15.

Tabel 5.13 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatid testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
1 hari	48,100 a	62,456 a
4 hari	25,781 b	31,925 b
7 hari	26,250 b	31,592 b

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur selama sehari, 4 hari, dan 7 hari menyebabkan penurunan jumlah sel spermatid secara bermakna, kecuali antar pemaparan selama 4 hari dan 7 hari tidak berbeda secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. Makin lama pemaparan jumlah sel spermatid makin menurun.

Tabel 5.14 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatid testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat pengaruh temperatur pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

Lama pemaparan temperatur	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
Kontrol	62,200 a	73,600 a
39 ⁰ C	27,125 b	36,933 b
40 ⁰ C	21,433 c	25,792 c
41 ⁰ C	21,000 d	31,662 d

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).

Pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰ dan 41⁰C menyebabkan penurunan jumlah sel spermatid secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir

pemaparan. Makin tinggi temperatur pemaparan makin menurun jumlah sel spermatid.

Tabel 5.15 Rata-rata hasil penghitungan jumlah sel spermatid testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akibat interaksi pengaruh temperatur dan lama pemaparan, 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan.

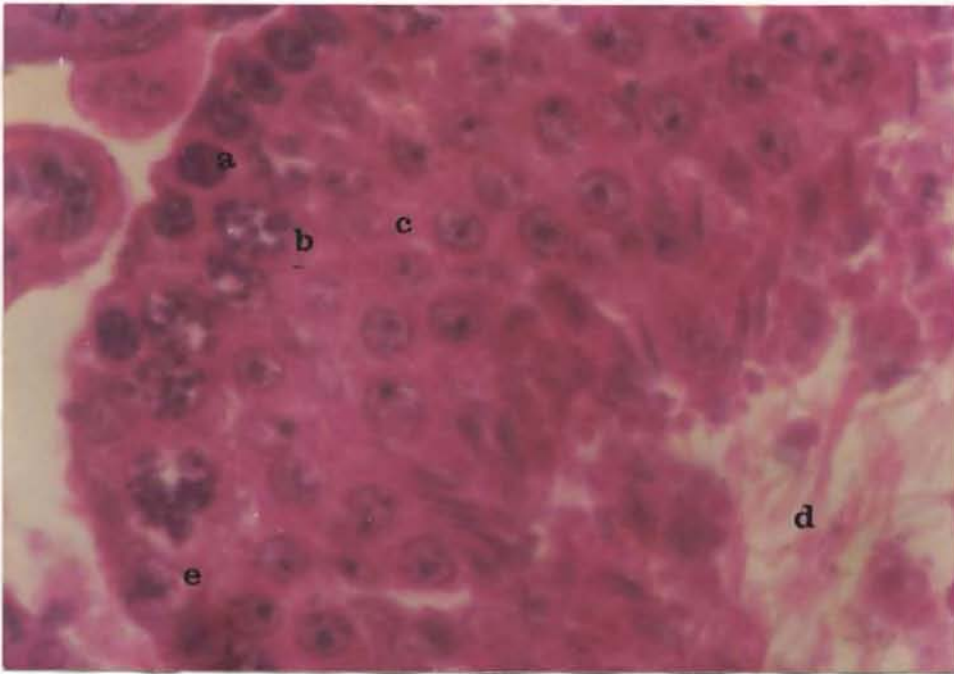
Lama pemaparan temperatur	Temperatur pemaparan	Pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan	Pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan
1 hari	Kontrol	59,925 a	69,525 a
	39 ⁰ C	50,700 b	69,150 a
	40 ⁰ C	49,075 b	60,350 b
	41 ⁰ C	32,700 c	50,800 c
4 hari	Kontrol	60,575 a	76,175 d
	39 ⁰ C	19,750 d	23,575 e
	40 ⁰ C	13,500 e	15,425 f
	41 ⁰ C	9,300 f	13,525 f
7 hari	Kontrol	66,100 g	75,100 d
	39 ⁰ C	10,925 ef	18,075 fg
	40 ⁰ C	1,725 h	1,600 g
	41 ⁰ C	a	a

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).
a = tidak teramati

Hasil uji Analisis Varians yang dilanjutkan dengan uji BNT terhadap rata-rata jumlah sel spermatid :

Semakin tinggi temperatur dan semakin lama pemaparan, jumlah sel spermatid semakin menurun secara bermakna pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan. antar kelompok kontrol pemaparan temperatur selama 1 hari dan 4 hari maupun pemaparan 39⁰C dan 40⁰C selama 1 hari pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna antar kelompok kontrol dan pemaparan temperatur 39⁰C selama 1 hari maupun

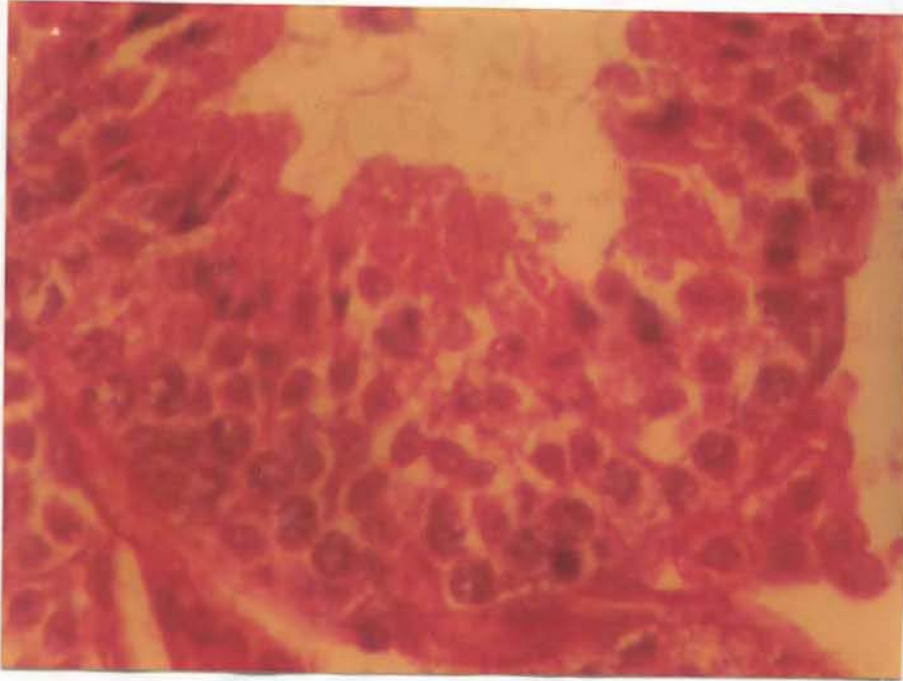
pemaparan temperatur 40°C dan 41°C selama 4 hari, kontrol pemaparan temperatur selama 4 hari dan 7 hari pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak berbeda secara bermakna. Kelompok pemaparan temperatur 41°C selama 7 hari pada pengamatan 1 hari dan 35 hari setelah akhir pemaparan tidak teramati adanya sel spermatid.



Gambar 5.1 Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok kontrol

Keterangan :

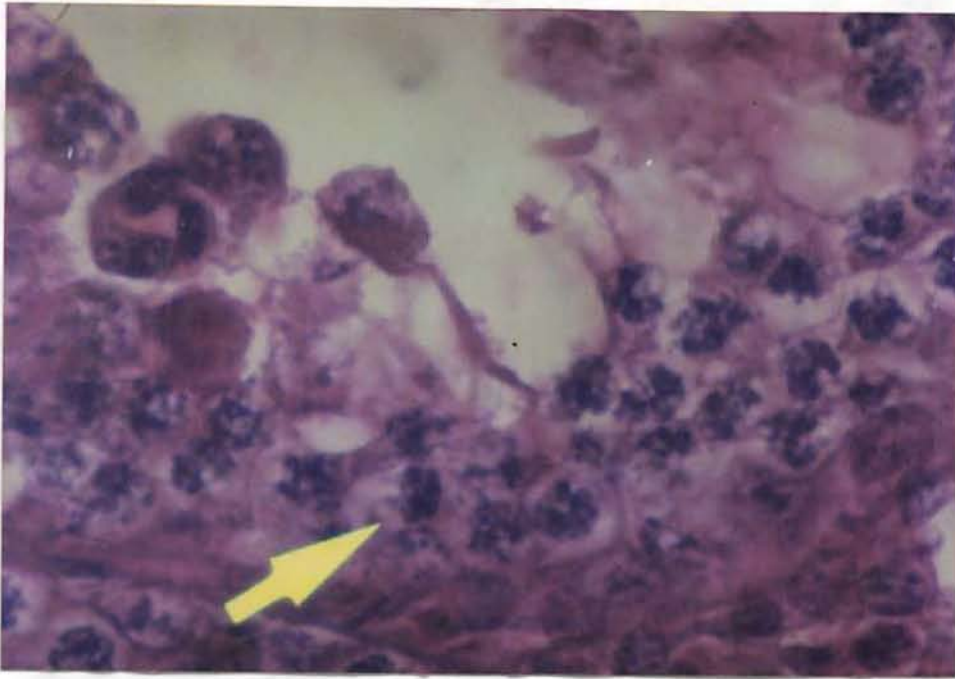
- a = spermatogonia,
- b = spermatosit primer,
- c = spermatid,
- d = spermatozoa,
- e = sel Sertoli,



Gambar 5.2 : Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok pemaparan temperatur 41°C selama 4 hari

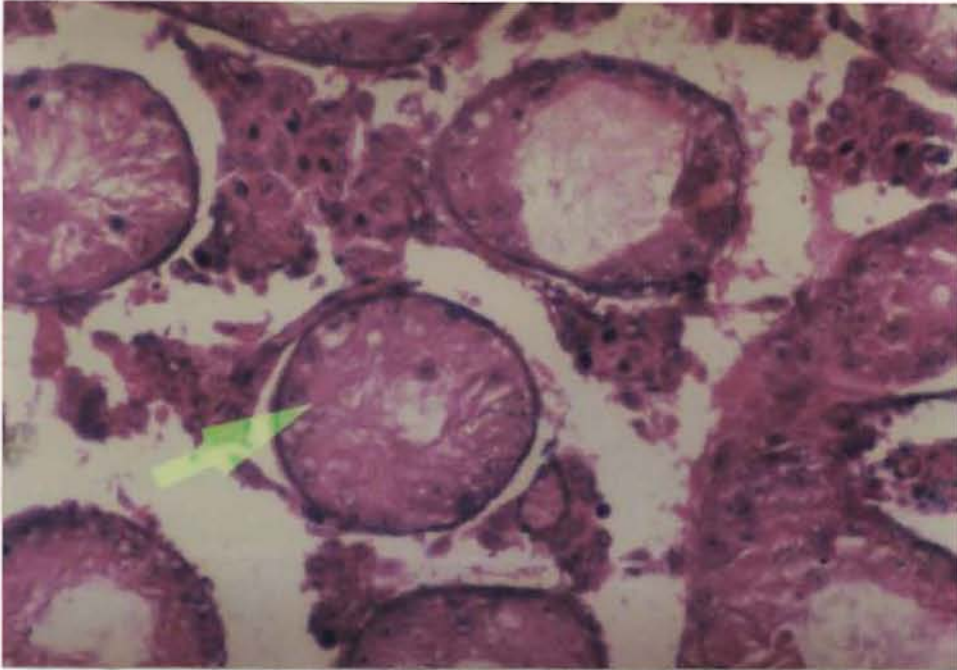
Keterangan :

Tampak terjadinya pelepasan sel-sel germinal ke arah lumen



Gambar 5.3. Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok pemaparan temperatur 41°C , selama 7 hari (pada pengamatan 1 hari setelah akhir pemaparan)

Keterangan : Tampak adanya kerusakan inti pada sel-sel germinal



Gambar 5.4. Struktur anatomi tubulus seminiferus mencit jantan dewasa kelompok pemaparan temperatur 41⁰C, selama 7 hari (35 hari setelah akhir perlakuan)

Keterangan :

Tidak teramati adanya sel germinal didalam tubulus seminiferus.

BAB 6

PEMBAHASAN

Proses spermatogenesis memerlukan kerja optimal dari hormon-hormon seks dan enzim pada temperatur yang optimal bagi pertumbuhannya yaitu $1,5-2^{\circ}\text{C}$ dibawah temperatur normal tubuh (Morgentaler *et al*,1999). Menurunnya aktivitas enzim dalam sintesa protein akibat pemaparan temperatur tinggi pada testis dapat menyebabkan gangguan pembentukan sel-sel germinal (Nicholls dan Rakhra, 1981).

Dalam penelitian ini pemaparan temperatur pada testis menimbulkan kerusakan inti sel-sel germinal. Menurut Morgentaler *et al* (1999), bahwa salah satu manifestasi seluler yang terjadi akibat pemaparan temperatur pada testis adalah kondensasi komponen nukleus, diakhiri dengan piknosis inti sel-sel germinal.

Pemaparan temperatur pada testis menyebabkan terjadinya *germ cell loss*. Mekanisme pengaruh temperatur terhadap *germ cell loss* dapat terjadi melalui apoptosis (Yin *et al*, 1977). Menurut Wyllie *et al* (1980), piknosis merupakan sifat morfologi yang spesifik dari apoptosis. Teknik molekuler menyatakan bahwa apoptosis karakteristik dengan adanya fragmentasi DNA (Yin *et al*, 1977'). Dalam penelitian ini kerusakan inti dapat menimbulkan fragmentasi DNA.

Sehingga dapat dikatakan bahwa adanya kerusakan inti merupakan tahap awal nekrosis atau kemungkinan terjadi apoptosis dan terjadinya fragmentasi

DNA menyebabkan sel-sel germinal tidak mampu mengadakan pembelahan, yang dalam hal ini dapat dilihat dari adanya penurunan jumlah sel-sel germinal dan bahkan tidak terbentuknya sama sekali sel-sel germinal pada 35 hari setelah pemulihan pada kelompok pemaparan temperatur 41⁰ C selama 7 hari.

Gen p53 adalah gen yang mempunyai fungsi mengatur proliferasi dan diferensiasi dalam siklus sel. Dalam hal ini gen tersebut memicu kerusakan sel untuk mengalami apoptosis atau *programmed cell death* apabila gagal dalam menjalankan fungsinya memperbaiki kerusakan DNA, yang dalam penelitian ini disebabkan oleh adanya kerusakan inti

Menurut Astuti (2000), temperatur intraskrotum yang meningkat menyebabkan terjadinya pelepasan dan disorganisasi sel-sel germinal, hal ini juga sering dijumpai pada penderita varikokel. Dalam penelitian ini juga tampak terjadinya pelepasan dan disorganisasi sel-sel germinal yang mulai terjadi pada pemaparan temperatur 39⁰C selama 4 hari. Efek langsung temperatur pada kejadian varikokel maupun kriptorkid pada sel germinal adalah akibat berkurangnya kadar hormon testosteron intratestikuler yang disebabkan oleh gangguan fungsi sel Leydig (Keel *et al*, 1993; Su *et al*, 1995).

Hormon testosteron di dalam tubulus seminiferus diperlukan untuk perkembangan tahap awal dan akhir spermatogenesis (Hadley, 1992), tahap spermiogenesis (Ganong, 1993), proliferasi dan diferensiasi sel germinal (Ross and Reith, 1985), serta perkembangan sel spermatosit menjadi spermatid (Noris, 1980). Menurut Nalbandov (1990), terdapat korelasi positif antara berat testis

dengan produksi testosteron. Dengan adanya pemaparan temperatur pada testis akan menyebabkan gangguan pada saat pembelahan atau perkembangan sel-sel epitelium germinal sampai menjadi spermatozoa.

Sebagai respon terhadap stres temperatur tinggi, sel akan mensintesa HSP sebagai mekanisme perlindungan sel (Pelham, 1986). Pada siklus epitelium tikus ekspresi HSP 60 mitokondria lebih tinggi pada sel-sel yang sedang mengalami mitosis (Meinhardt *et al*, 1995). Demikian pula menurut Astuti (2000), bahwa HSP 70 tampak terdistribusi secara normal di daerah perifer yaitu antara lain terdapat pada sel spermatogonia yang selalu mengadakan pembelahan mitosis menjadi sel spermatosit primer dan di daerah lumen dimana terdapat sel spermatid yang akan mengalami spermiogenesis menjadi sel spermatozoa. Sintesa HSP 60 dan HSP 70 oleh sel spermatogonia pada keadaan normal maupun pemaparan temperatur tinggi pada testis menunjukkan upaya proteksi testis terutama sel-sel spermatogonia untuk mengisi kembali dengan sel-sel germinal (repopulasi), hal ini juga berkaitan dengan resistensi sel spermatogonia terhadap temperatur tinggi.

Perubahan proses spermatogenesis secara histologis dapat dilihat dari jumlah dan ukuran sel-sel penyusun tubulus seminiferus, yang akan mempengaruhi baik diameter maupun tebal epitelium. Dalam penelitian ini terjadi penurunan jumlah sel-sel germinal dalam berbagai tahap maupun pengecilan ukuran diameter tubulus seminiferus yang semakin meningkat akibat semakin tinggi dan lamanya temperatur pemaparan. Berdasarkan landasan teoritis dan empiris tersebut diatas, pemaparan temperatur tinggi pada testis dapat

menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas enzim yang menyebabkan menurunnya sintesa protein, penurunan kadar hormon testosteron, yang masing-masing mengakibatkan gangguan spermatogenesis.

Pada penelitian ini gangguan spermatogenesis diwakili oleh pengamatan terhadap berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid (Tienhoven, 1983).

6.1 Berat testis

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰ dan 41⁰C setengah jam setiap hari selama sehari tidak menyebabkan penurunan berat testis dibanding kelompok kontrol, hal ini disebabkan dengan lama perlakuan yang relatif singkat sehingga belum terjadi perubahan jumlah sel-sel germinal.

Pada perlakuan selama 4 hari dan 7 hari terjadi penurunan yang bermakna dari berat testis. Hal ini sesuai dengan penelitian Astuti (2000), bahwa pemaparan temperatur 40⁰C pada testis tikus 1 jam setiap hari selama 4 hari dan 7 hari menyebabkan penurunan berat testis.

Menurut Yizhong Yin *et al* (1997), bahwa testis tikus kriptorkid dimana testis berada pada temperatur tubuh yang lebih tinggi dari temperatur dalam

skrotum, pada 6 hari pertama berat testisnya tidak berubah, tetapi pada testis kriptorkid 8 hari mengalami penurunan. Dalam penelitian ini terjadi penurunan berat testis yang lebih dini.

Tubulus seminiferus merupakan penyusun terbesar dari masa testis (de Kretser and Rich, 1983), sedangkan tubulus seminiferus disusun oleh sel-sel germinal, sehingga menurunnya jumlah sel-sel germinal yang merupakan komponen penyusun tubulus seminiferus menyebabkan terjadinya penurunan berat testis, hal ini diperkuat oleh adanya pengecilan ukuran diameter tubulus seminiferus.

Pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan, perlakuan selama sehari tampak terjadinya pemulihan berat testis, namun pada kelompok perlakuan 4 hari dan 7 hari terjadi pemulihan berat testis. Keadaan ini disebabkan oleh karena dengan makin tinggi dan makin lamanya waktu pemaparan, maka semakin besar kerusakan inti sel-sel germinal sehingga tidak mampu mengadakan pembelahan yang pada akhirnya menyebabkan jumlah selnya menurun.

6.2 Diameter tubulus seminiferus

Tubulus seminiferus sebagai penyusun terbesar dari masa testis merupakan saluran yang mempunyai lumen ditengah dan dindingnya terdiri dari sel-sel epitelium germinal. Pada mamalia yang telah dewasa, epitelium tubulus seminiferus terdiri dari sel-sel Sertoli dan berbagai stadium sel germinal.

Sesuai dengan penelitian Astuti (2000), bahwa pemaparan temperatur 40°C 1 jam setiap hari pada testis tikus mulai terjadi penurunan ukuran diameter tubulus seminiferus secara bermakna setelah perlakuan selama sehari dan ukuran diameter semakin mengecil dengan semakin lamanya waktu pemaparan. Sedangkan dalam penelitian ini ukuran diameter tubulus seminiferus mengalami pengecilan dibanding kelompok kontrol pada pemaparan temperatur 39° , 40° , 41° C selama 4 hari dan 7 hari maupun kelompok pemaparan temperatur 40°C dan 41°C selama sehari, sedangkan pada kelompok pemaparan temperatur 39°C selama sehari tidak terjadi pengecilan.

Spermatogenesis berjalan normal didalam tubulus seminiferus melalui serangkaian proses pembelahan sel-sel germinal secara berurutan membentuk sel-sel baru dengan arah perkembangan sel dari perifer ke arah medial menuju lumen. Dalam keadaan stres temperatur tinggi akan terjadi gangguan perkembangan dan pembelahan sel-sel germinal yang secara histologis dapat dilihat dari jumlah sel-sel penyusun tubulus seminiferus yang berkurang, terputusnya perkembangan sel pada salah satu tahapan dan terjadinya pelepasan sel-sel germinal. Adanya gangguan tersebut antara lain dapat dilihat dari ukuran diameter tubulus seminiferus.

Dalam penelitian ini tampak adanya penurunan jumlah sel-sel penyusun tubulus seminiferus maupun pelepasan sel-sel germinal yang belum matur ke arah lumen. Adanya penurunan jumlah sel-sel germinal yaitu sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatid ini merupakan salah satu penyebab menurunnya

ukuran diameter tubulus seminiferus. Hal ini sesuai dengan penelitian Astuti (2000), bahwa pemaparan temperatur 40°C 1 jam setiap hari pada testis tikus terjadi pelepasan sel-sel geminal.

Pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan, pada perlakuan selama sehari dengan temperatur 39°C terjadi pemulihan ukuran diameter tubulus seminiferus, sedangkan pada perlakuan lainnya belum terjadi pemulihan. Hal ini disebabkan karena dalam satu siklus spermatogenesis yaitu ± 35 hari sudah terjadi pertumbuhan kembali mencapai jumlah sel normal, sedangkan belum terjadinya pemulihan pada perlakuan yang lain adalah akibat kerusakan inti sel-sel germinal yang merupakan komponen penyusun tubulus seminiferus, yang menyebabkan sel-sel germinal tidak mampu mengadakan pembelahan dan pada akhirnya ukuran tubulus seminiferus tidak terjadi pemulihan mencapai ukuran yang normal.

Tidak terjadinya pengecilan ukuran diameter tubulus seminiferus pada perlakuan selama sehari karena dalam waktu yang relatif singkat dan dengan temperatur yang tidak terlalu tinggi yaitu 39°C belum teramati adanya kerusakan sel-sel germinal yang menyusun tubulus seminiferus

6.3 Sel spermatogonia

Hasil penghitungan jumlah sel spermatogonia dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pada pemaparan temperatur 39°C selama sehari tidak terjadi penurunan jumlah sel spermatogonia, hal ini disebabkan dalam waktu relatif singkat kemungkinan belum terjadi kerusakan sel oleh karena adanya mekanisme

perlindungan sel oleh protein HSP yang masih berfungsi pada temperatur yang tidak terlalu tinggi. Sedangkan pada kelompok lainnya terjadi penurunan jumlah sel secara bermakna.

Seperti diketahui bahwa pemaparan temperatur tinggi akan menyebabkan hilangnya atau menurunnya aktivitas katalitik enzim dalam sintesa protein, sehingga tidak terjadi transkripsi maupun translasi dan pada akhirnya tidak ada pembentukan, pertumbuhan maupun perkembangan sel khususnya sel spermatogonia. Disamping itu akibat pemaparan temperatur tinggi menurut Su *et al* (1995), terjadi gangguan fungsi sel Leydig, sehingga kadar testosteron di dalam testis menurun. Sedangkan testosteron di dalam tubulus seminiferus testis mempunyai peran antara lain dalam perkembangan awal spermatogenesis, proliferasi dan diferensiasi sel germinal dalam hal ini sel spermatogonia, sehingga pada pengamatan histologis tampak adanya penurunan jumlah sel-selnya.

Sebagai respon terhadap stres temperatur tinggi sel akan mensintesa protein HSP sebagai mekanisme perlindungan sel (Welch, 1993). Menurut Astuti (2000), bahwa HSP 70 secara normal (tanpa pemaparan temperatur) terdistribusi di daerah perifer dalam hal ini terdapat pada sel spermatogonia yang diperlukan untuk perlindungan sel. Dikatakan juga oleh Meinhardt *et al* (1995), bahwa ekspresi HSP 60 mitokondria pada siklus epitelium tikus lebih tinggi pada sel-sel yang sedang mengalami mitosis, dalam hal ini sel spermatogonia. Jadi dengan adanya pengaruh stres temperatur sel spermatogonia lebih resisten dibanding sel germinal lainnya. Namun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemaparan temperatur

tinggi menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, karena tidak berfungsinya HSP sebagai mekanisme perlindungan sel. Bahkan pada kelompok pemaparan temperatur 41°C selama 7 hari tidak teramati adanya sel spermatogonia, hal ini disebabkan karena adanya kerusakan inti yang mengandung unit pembelahan sel sehingga pada 35 hari setelah akhir pemaparan juga tidak terjadi pemulihan sel spermatogonia atau kemungkinan tidak adanya mekanisme perlindungan sel oleh protein HSP akibat temperatur yang terlalu tinggi dalam waktu yang relatif lama. Kerusakan inti juga dapat menimbulkan gangguan maupun hambatan pertumbuhan sel, sehingga akan menyebabkan terjadinya *germ cell loss*.

6.4 Sel spermatosit primer

Pemaparan temperatur tinggi pada testis menyebabkan disintesisnya protein HSP 70, sebagai mekanisme perlindungan sel. Namun seperti dikatakan Astuti (2000), bahwa dengan makin lamanya pemaparan temperatur tinggi akan menyebabkan makin lambat dan relatif minimalnya sel spermatosit dalam mensintesa HSP 70 sehingga sel spermatosit menjadi lebih peka terhadap pengaruh stres temperatur tinggi dibanding sel spermatogonia.

Hormon testosteron di dalam tubulus seminiferus diperlukan untuk diferensiasi sel germinal (Ross and Reith, 1985) serta perkembangan sel spermatosit menjadi sel spermatid (Noris, 1980). Jadi akibat pemaparan temperatur tinggi pada testis akan menyebabkan gangguan pada saat pembelahan

atau perkembangan sel-sel epitelium germinal, dalam hal ini sel spermatosit primer.

Pemaparan temperatur 43°C selama 15 menit pada testis tikus *single episode* mengakibatkan kerusakan pada tahap yang paling sensitif terhadap temperatur yaitu tahap pakiten spermatosit dan *round spermatid*. Tujuh sampai 10 hari setelah pemaparan temperatur belum terjadi perubahan, tetapi pada hari ke 14 setelah pemaparan baru terjadi perubahan dan hari ke 28-35 setelah pemaparan kembali normal (Chowdhury and Steinberger, 1964).

Disamping itu pemaparan temperatur tinggi dalam penelitian ini juga menyebabkan adanya kerusakan yang jelas pada inti sel spermatosit primer yaitu dimulai pada kelompok perlakuan temperatur 41°C selama 4 hari, kemungkinan pada keadaan tersebut terjadi nekrosis stadium awal dan kemungkinan terjadi apoptosis.

Menurut Yin *et al* (1997), mekanisme pengaruh temperatur terhadap *germ cell loss* dapat terjadi melalui apoptosis. Menurut Morgentaler *et al* (1999) salah satu manifestasi seluler akibat pemaparan temperatur pada testis adalah kondensasi komponen nukleus yang diakhiri dengan piknosis inti sel. Menurut Wyllie *et al* (1980), bahwa piknosis merupakan sifat morfologi yang spesifik dari apoptosis.

Teknik molekuler menyatakan bahwa apoptosis karakteristik dengan adanya fragmentasi DNA (Yin *et al*, 1997), rusaknya inti akan menyebabkan sel tidak mampu mengadakan pembelahan. Dalam penelitian ini rusaknya inti

menyebabkan *germ cell loss* dan penurunan jumlah sel spermatosit primer sehingga pada pengamatan 35 hari setelah akhir pemaparan pada pemaparan temperatur 41°C selama 7 hari dan pada perlakuan yang lain tidak terjadi pemulihan jumlah sel-selnya. Pada pemaparan temperatur 39°C selama sehari pada 35 hari kemudian terjadi pemulihan jumlah sel-selnya, hal ini karena pada perlakuan dengan temperatur tersebut dalam waktu yang relatif singkat setelah satu siklus spermatogenesis sudah terjadi pertumbuhan jumlah sel-selnya menjadi normal

Menurut Tendean dkk (1981), testosteron mempunyai peran dalam pembelahan meiosis, dan menurunnya testosteron memungkinkan proses pembelahan meiosis terhambat sehingga perkembangan sel spermatosit menjadi sel spermatid terhambat

Berdasarkan landasan teori tersebut pemaparan temperatur tinggi pada testis menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel spermatosit primer.

6.5 Sel spermatid

Pada pemaparan temperatur 39°C selama sehari sudah terjadi pemulihan jumlah sel spermatid, karena pemaparan temperatur tersebut dalam waktu yang relatif singkat setelah satu siklus spermatogenesis mampu mengadakan pertumbuhan dan perkembangan mencapai jumlah normal.

Sedangkan Pemaparan temperatur tinggi pada testis untuk perlakuan lainnya menyebabkan gangguan fungsi sel Leydig dalam memproduksi hormon

testosteron. Kadar testoteron yang rendah dalam testis menyebabkan tidak terjadinya diferensiasi sel germinal (Ross and Reith, 1985) maupun perkembangan sel spermatosit menjadi sel spermatid (Noris, 1980).

Pemaparan temperatur yang semakin tinggi dan semakin lama menyebabkan sel spermatosit makin lambat dan relatif minimal mensintesa HSP 70 sebagai mekanisme perlindungan sel, sehingga makin sensitif terhadap pengaruh temperatur. Hal ini dapat berakibat terhambatnya proses perkembangan sel spermatosit primer menjadi sel spermatid.

Penurunan kadar hormon testosteron maupun relatif minimalnya sintesa HSP 70 oleh sel spermatosit primer dalam penelitian ini menyebabkan jumlah sel spermatid menurun dan penurunan semakin tajam dengan makin tinggi dan makin lamanya waktu pemaparan.

Tidak teramatinya sel spermatid disebabkan oleh adanya kerusakan inti sel spermatosit primer sehingga tidak terjadi pembelahan dan tidak terbentuk sel spermatid dan terhambatnya proses meiosis akibat menurunnya kadar hormon testosteron sehingga tidak terjadi pertumbuhan sel spermatosit menjadi sel spermatid.

BAB 7**KESIMPULAN DAN SARAN****7.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemaparan temperatur 39⁰, 40⁰, 41⁰C setengah jam setiap hari selama sehari, 4 hari dan 7 hari adalah sebagai berikut :

1. Pemaparan temperatur tinggi mempengaruhi spermatogenesis, yaitu makin tinggi temperatur pemaparan makin menurun berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid.
2. Lama pemaparan mempengaruhi spermatogenesis, makin lama waktu pemaparan makin menurun berat testis, ukuran diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit primer dan jumlah sel spermatid.
3. Terdapat interaksi antara pengaruh temperatur pemaparan dan lama pemaparan terhadap proses spermatogenesis. Makin tinggi temperatur pemaparan dan makin lama waktu pemaparan spermatogenesis makin menurun, kecuali pada pemaparan temperatur 39⁰C selama satu hari.
4. Pada pemaparan temperatur 41⁰C selama 7 hari tidak teramati adanya sel-sel germinal (sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatid).
5. Pada 35 hari setelah akhir pemaparan belum terjadi pemulihan spermatogenesis, kecuali pada pemaparan temperatur 39⁰C selama sehari.

7.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai reversibilitas spermatogenesis akibat pengaruh pemaparan temperatur dengan interval variasi temperatur dan interval lama pemaparan yang lebih singkat. Hal ini penting di dalam mengungkap dan menangani secara tuntas terhadap kejadian infertilitas yang disebabkan oleh pengaruh temperatur serta memberikan informasi bagi pekerja di lingkungan temperatur tinggi agar berhati-hati terhadap akibat infertilitas yang ditimbulkan.



DAFTAR PUSTAKA

- Astuti T (2000). *Distribusi Protein Stress (HSP 70) pada jaringan Testis Tikus Wistar pada Kondisi stress suhu tinggi*. Tesis.
- Bardin C, Cheng CY, Musto NA and Gunsalus GL (1998). *The Sertoli cell in the Physiology on Reproduction*. Raven Press Ltd. New York. P.920-925.
- Bennet JP and Vickery BH (1970). *Rate and Mice in Hafez, ESE (editor) Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal*. Lea and Febiger Philadelphia. P.299-315.
- Bevelander, G and Ramaley, A (1988). *Histologi Dasar*. Ed.8. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hal. 340-363.
- Clermont, Y. (1963). The cycle of the seminiferous epitnelium in man. *Am. J. Anat.* **112**:35-51.
- Clermont, Y. (1993). Introduction to the Sertoli cell, in : *The Sertoli cell*, edited by : L.D Russel and M.D. Griswold, pp XXI-XXV, Cache River Press, Clearwater, Florida.
- Clermont, Y and Bustos - Obregon, E. (1968). Re-examination of spermatogonia Renewal in the Rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto". *Am. J. Anat.*, **122** : 237-247.
- Chowdhury, AK. And Steinberger E. (1964). A quantitative study of effect of the heat on germinal epitnelium of the rat testis. *Am. J. Anat.* **115** : 509-524.
- Damber JE, Maddock S, Widmark A, Berg A (1992) Testicular Blood Flow and Vasomotion can be Maintained by Testosterone in Leydig Cell Depleted rats. *Int. J. Androl.* **15** : 385-393.
- Davis JR. Firlit CF.(1966). The germinal epithelium of cryptorchid testes experimentally induced in prepubertal and adult rats. *Fertil Steril* **17**:187-200.
- De Kretser, M. and Kerr, JB (1988). *The Cytology of The Testis in The Physiology of Reproduction* (Edited by : Knowbil, E., Neil, J., Ewings II and Green Wald, GS.). Raven Press Ltd, New York. P. 837-916.
- De Kretser DM, Me Lachlan RI, Robertson DM and Wreford NG. (1992). Control of Spermatogenesis by Follicle Stimulating Hormon and testosterone. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism* **6**:335-354.

- De Kretser DM. (1995). *Principle and Practice of endocrinology and metabolism*. 2nd edition. IB. Lippincott company. Philadelphia, pp : 1032-1043.
- De Kretser DM., Loveland KL., Meinhardt A., Simorangkir D. and Wreford N. (1998). Spermatogenesis. In : Current theory and practice in ICSI. *Human Reproduction* 13 (Supp 1.1) : 1:8.
- Dellman, H.D and Brown, E.M. (1978). *Texbook of Veterinary Histology*. Philadelphia : Lea and Febiger. pp. 282-334.
- Dellman, H.D and Brown, E.M. (1992). *Buku Teks Histologi Veteriner* . Vol II. Terjemahan Hartono. Penerbit UI - Press Jakarta.
- Ferdinandus IA (1980). Spermatogenesis Ditinjau Dari Segi Histologi. In : *Prosiding Seminar Spermatogenesis*. (editor : KM Arsyad). Surabaya. Desember. pp. 1-16
- Ganong WF (1993). *Review of Medical Physiology*. 16 th.ed. Prentice Hall. Inc. Massachusetts. pp : 234-235.
- Gilbert SF (1991). *Developmental Biology*. 3rd Ed. Sinaeur Associate Inc. Massachusetts. pp. 234-235.
- Hadley MF (1992). *Endocrinology*. Willey Eastern Private Ltd. New Delhi. p. 119, 190.
- Hafez ESE (1993). *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In *Reproduction in Farm Animal*. Sixth ed. Lea and Febiger. USA. pp : 165-179.
- Hardjopranjoto S. (1995). *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Hume CW. (1972). *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animal*. 4th edition. Churchill, livingstone Edinburg and London. 1 : 99-204.
- Insler V and L. Biwno (1993). *Infertility : male and female* , Chenci II Livingstone, London.
- Johnson M, Everitt B. (1998). *Testicular Function*. In *Essential Reproduction*, Blackwell Scientific Publication. Third Edition, pp. 50-74.
- Junquiera LC; Jose C and Robert OK (1992). The Male Reproduction System. In *Basic Histology*. 7th Ed. Apleton and Lange. London. pp : 423 - 434.

- Kerr, J.B. and Knell, C.M. (1992). *The fate of fetal leydig cells during the development of fetal and post natal rat testis Development*. 103:535-544.
- Keel BA. Abney TO (1981). Alteration of testicular function in the unilateral , cryptorchid rat. *ProcExpSocBiol Med*. 166 : 489-495.
- Kwak HJ. Jun CD, Pae HO, Yoo JC, Choi BM, NaYG, Park RK, Chung HT, Chung HY, Park WY, Sco JS. (1998). The role of inducible 70-Kda Heat Shock Protein in cell death of human myeloid leukemic : HL-60 cells. *Cells Immunol*. 187 : 1-12.
- Lameschow S, Hosmer DW, Klar J and L. wangsa KS (1990). *Adequacy of sample size in health studies*. New York. John Wiley & Sons.
- Leblond, C.P. and Clermont, Y. (1952). Definition of the stages of the cycle of seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 55:548-573.
- Lindquist, (1986). The heat shock response. *Ann. Rev. biochem*. p : 55, 1151-1191.
- Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky, Matsudaira P, Damell J. (1993) *Matrix Chaperones Are Essential for the Import and Folding of Mitochondrial Proteins*. In *Molecular Cell Biology* 3rd edition. Freeman WH and Company, pp: 826-829.
- Maekawa K, Ji, ZS and Abe SI (1995). Proliferation of New Spermatogonia by Mamalian FSH Via Sertoli Cell in Vivo. *Journ. of Experimental Zoology*. 272 No. 5.
- Marlinata A, Pangkahila A. (1980). Pengaruh fisik terhadap spermatogenesis. *Prosiding Seminar Spermatogenesis*. pp : 49-53.
- Max Perutz (1992). *Protein Structure New Approaches to Disease and Therapy*. Medical Research. Council, Laboratory of Molecular Biology. Cambridge, England. W.H. Freeman and Company New York. pp : 59-63.
- Meinhardt A, Parvinen M, Bacher M, Aumuller E, Hakovinta H, Yagi A, Seitz J. (1995). Expression of Mitochondria Heat Shock Protein 60 in Distinct All Types and Defined Stages of Rat Seminiferous Epithelium. *Biol.Reprod*. Apr : 52 : 798-807.
- Mieusset R., Grand jean H, Mansat A and Pontnnier F (1985). Inhibiting effect of artificial cryptorchidism on spermatogenesis. *Fertility and Sterility*. 43 : 589-594.

- Morgentaler A, Stahl BC and Yin YZ (1999). Testis and temperature : an historical, clinical and reseach perspective. *Journal of Andrology* 20 : 189-195.
- Nalbandov, AV. (1990). *Fisiologi Reproduksi Mamalia dan Unggas*. Penerjemah Sunaryo Keman. Edisi ke-3. Jakarta : Universitas Indonesia Press. hal: 247-261.
- Nicholls, D.M and Rakhra, G.S. (1981). Testicular Protein Synthesis During The Responce to Subtocxic Levels of Cadmium. *Horm. Res.* 14: 56-69.
- Norris DO. (1980). *Vertebrate Endocrinology*. Lea and Febiger. Philadelphia. pp. 114-115.
- Nover. (1984). *Heat Shock Response of Eukaryotic Cell*. Spingerverlag, Berlin and New York.
- Ohta Y, Nishikawa A, Fukazawa Y, Urushitani H, Matsuzawa A, Nishina Y, Iguchi T. (1996). Apoptosis in adult mouse testis induced by experimental cryptorchidism. *Acta. Anat.* 157 : 195-204.
- Pelham, H.R.B. (1986). A regulatory upstream promoter element in Drossophyla hsp 70 heat shock gene. *Cell* 30 : 517-528.
- Rahayu S.(1994) *Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Buah Avicennia Marina (Forsk) Vierh dan Pengaruhnya Terhadap Perkembangan Embrio pada Mencit*. Thesis. Unair. Surabaya. Hal. 19-25
- Ramzi S, Cotran M.D., Vinay Kumar M.D., Stanley L., Robbins M.D. Managing Editor Frederick J. Schoen, M.D., PhD. (1994). *Robbins Pathologic Basic of Disease*. 5th Edition. W.B. Saunders Company, p: 21.
- Raugh R.(1968). *The Mouse : its Reproduction and Development* Burgess. Publishing Co. Mineapolis. pp: 7-43.
- Ross MH and Reith E.J. (1985). *Histology A Text and Atlas*. Prentice Hall Inc. Nem York.
- Rich, K.A. and de kretser, D.M. (1983). Spermatogenesis and the Sertoli cell, in: *Monographs of endocrinology-the pituitary and testis*. Clinical and experimental studies, edited by: D.M. de Kretser, H.G. Burger and B. Hudson. Springer & Verlag, New York.p:84-105.

- Samuel S.C. Yen, M.D., D.Sc., Robert B.Jaffe, M.D. (1986). *Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology and Clinical Management*. 2nd Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia/London/Toronto/MexicoCity/Rio de Janeiro / Sydney / Tokyo/Hongkong. p: 576.
- Schwartz D, Goldfinger N, Rotter V. (1993). Expression of p53 protein in spermatogenesis is confined to the tetraploid pachytene primary spermatocytes. Department of cell Biology, Weizmann Institute of Science. *Rehovot Israel*. 8: 1487-94.
- Sharpe RM, Kerr JB, Fraser HM, Bartlett JMS. (1986). Intratesticular factor and testosterone secretion. *J Androl*. 7:180-189.
- Simongkir DR, Wreford NE and de Kretser DM. (1997). Impaired Germ Cell Development in the Testis of Immature Rats with Neonatal Hypothyroidism. *Journal of Andrology*. 18: 186-193.
- Snedecor GW and George William C. (1967). *Statistical method*. 6th Edition, the Iowa state University Press, US
- Speroff L. (1994). *Clinical Gynaecology Endocrinology and Fertility*. Williams and Wilkins Baltimore.
- Steel RG and JH Torrie. (1991). *Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach*. 2nd Et. Mc Grow Hill Book Co. Singapore. pp: 90-101
- Stephen L Wolfe. (1993). m-rec : An Enzyme That Effect Genetic Recombination in Meiotic Cells. *Molecular and Cellular Biology*. Wadsworth Publishing Company Belmont, California. pp: 1074-1075.
- Suhadi K. (1979). *Spermatologi*. Surabaya : Perkumpulan Andrologi Indonesia.
- Su LM, Gold Stein M, Schlegel PN. (1995). The effect of varicocelectomy on the serum testosterone levels in infertile men with varicoceles. *J. Urol*. 154 : 1752-1755.
- Tanguay RM, Wu Y dan Khandjian EW. (1993). Tissue Specific Expression of Heat Shock Protein of The Mouse in The Absence of Stress. *Development Genetics* 14 :112-118.
- Tapanainen JS, Tilly JL, Vihko KK, Ilusich AJW.(1993). Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: gonadotropins and androgens testicular cell survival factors. *Mol Endocrinol*. 7:643-650.

- Tendean O.S, Soejono D, Arsyad K.M., Pangkahila A.J. (1981). *Peranan Sel Sertoli Pada Spermatogenesis*. Surabaya : Pengurus Besar Perkumpulan Andrologi Indonesia.
- Tienhoven A. (1983). *Reproductive Physiology of Vertebrate*. 2nd Ed. Coornel University Press. Ithaca London. pp: 91-95.
- Troiano L, Fustini MF, Lovato E, Frasoldati A, Malorni W, Capri Grassilli E, Marrama P, Franceshi C.(1994). Apoptosis and spermatogenesis evidence from an in vivo model of testosterone withdrawal in the adult rat. *Biochem Biophys Res Commun*. **202**:131-132.
- Wayne M. Becker, Jane B. Reece, Martin F. Poenie. (1996). *The World of the Cell*. 3rd Edition. The Benjamin/cummings Publishing Company. p.824.
- Wee and Grogan. (1993). Testis and Temperature : an historical, clinical and research perspective. *Journal of Andrology*. **20** : 189-195.
- Welch, W.J. (1993). How Cell Respond to Stress. *Scientific American* 40.
- Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. (1980). Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol*. p: 68,251-306.
- Yin Y, Dewolf WC, Morgantaler A. (1998). Experimental cryptorchidism induces testicular germ cell apoptosis by p.53-dependent and independent-pathways in mice. *Bio Reprod*. **58**: 2. 492-6.
- Yizhong Yin, Kirsten L., Hawkins, William C, Dewolf and Abraham Morgantaler (1997). Heat Stress Causes Testicular Germ Cell Apoptosis in Adult Mice. *Journal of Andrology*. p : 159-165.

Lampiran 1 Berat testis 1 hari setelah akhir perlakuan

	lama	suhu	berat
1	1	1	.1240
2	1	1	.1250
3	1	1	.1265
4	1	1	.1253
5	1	2	.1239
6	1	2	.1234
7	1	2	.1140
8	1	2	.1235
9	1	3	.1134
10	1	3	.1281
11	1	3	.1233
12	1	3	.1237
13	1	4	.1281
14	1	4	.1243
15	1	4	.1243
16	1	4	.1235
17	2	1	.1320
18	2	1	.1245
19	2	1	.1249
20	2	1	.1255
21	2	2	.0923
22	2	2	.0878
23	2	2	.0834
24	2	2	.0931
25	2	3	.0825
26	2	3	.0835
27	2	3	.0921
28	2	3	.0853
29	2	4	.0720
30	2	4	.0778
31	2	4	.0790
32	2	4	.0805
33	3	1	.1249
34	3	1	.1290
35	3	1	.1150
36	3	1	.1250
37	3	2	.0653
38	3	2	.0603
39	3	2	.0531

	lama	baru	bertast
40	3	2	.0553
41	3	3	.0525
42	3	3	.0523
43	3	3	.0490
44	3	3	.0485
45	3	4	.0375
46	3	4	.0590
47	3	4	.0400
48	3	4	.0385

Lampiran 2 Hasil uji analisis varian dua arah berat testis 1 hari setelah perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	16
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BERTESTI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Intercept	Hypothesis	.448	1	.448	93.520	.002
	Error	1.436E-02	3	4.786E-03 ^a		
LAMA	Hypothesis	2.307E-02	2	1.153E-02	8.748	.017
	Error	7.910E-03	6	1.318E-03 ^b		
SUHU	Hypothesis	1.436E-02	3	4.786E-03	3.630	.084
	Error	7.910E-03	6	1.318E-03 ^b		
LAMA * SUHU	Hypothesis	7.910E-03	6	1.318E-03	48.285	.000
	Error	9.830E-04	36	2.730E-05 ^c		

- a. MS(SUHU)
- b. MS(LAMA * SUHU)
- c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	12.000	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	12.000	4.000	1.000	
LAMA * SUHU	.000	4.000	1.000	
Error	.000	.000	1.000	

- a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.
- b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Estimated Marginal Means

Lampiran 3 Hasil uji BNT berat testis 1 hari setelah akhir perlakuan

1. Grand Mean

Dependent Variable: BERTESTI

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
9.657E-02	.001	9.504E-02	9.810E-02

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: BERTESTI

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	.124	.001	.121	.126
2	9.578E-02	.001	9.313E-02	9.843E-02
3	7.012E-02	.001	6.748E-02	7.277E-02

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: BERTESTI

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	2.803E-02*	.002	.000	2.428E-02	3.177E-02
	3	5.368E-02*	.002	.000	4.993E-02	5.742E-02
2	1	-2.803E-02*	.002	.000	-3.177E-02	-2.428E-02
	3	2.565E-02*	.002	.000	2.191E-02	2.940E-02
3	1	-5.368E-02*	.002	.000	-5.742E-02	-4.993E-02
	2	-2.565E-02*	.002	.000	-2.940E-02	-2.191E-02

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: BERTESTI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2.307E-02	2	1.153E-02	422.376	.000
Error	9.830E-04	36	2.730E-05		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: BERTESTI

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	.126	.002	.123	.129
2	9.200E-02	.002	8.894E-02	9.506E-02
3	8.645E-02	.002	8.339E-02	8.951E-02
4	8.194E-02	.002	7.888E-02	8.500E-02

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: BERTESTI

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	3.368E-02*	.002	.000	2.955E-02	3.821E-02
	3	3.944E-02*	.002	.000	3.511E-02	4.376E-02
	4	4.394E-02*	.002	.000	3.962E-02	4.827E-02
2	1	-3.388E-02*	.002	.000	-3.821E-02	-2.955E-02
	3	5.558E-03*	.002	.013	1.232E-03	9.885E-03
	4	1.006E-02*	.002	.000	5.736E-03	1.439E-02
3	1	-3.944E-02*	.002	.000	-4.376E-02	-3.511E-02
	2	-5.558E-03*	.002	.013	-9.885E-03	-1.232E-03
	4	4.504E-03*	.002	.042	1.777E-04	8.831E-03
4	1	-4.394E-02*	.002	.000	-4.827E-02	-3.962E-02
	2	-1.006E-02*	.002	.000	-1.439E-02	-5.736E-03
	3	-4.504E-03*	.002	.042	-8.831E-03	-1.777E-04

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: BERTESTI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	1.436E-02	3	4.786E-03	175.296	.000
Error	9.830E-04	36	2.730E-05		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BERTESTI

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	3.275E-03	3.695E-03	.381	-4.21863E-03	1.07686E-02
	3	3.625E-03	3.695E-03	.333	-3.88863E-03	1.11186E-02
	4	6.875E-04	3.695E-03	.853	-6.80613E-03	8.18113E-03
	5	-1.775E-03	3.695E-03	.634	-9.26863E-03	5.71863E-03
	6	3.408E-02*	3.695E-03	.000	2.65814E-02	4.15886E-02
	7	3.900E-02*	3.695E-03	.000	3.15064E-02	4.64936E-02
	8	4.839E-02*	3.695E-03	.000	4.08939E-02	5.58811E-02
	9	1.226E-03	3.695E-03	.742	-6.26863E-03	8.71863E-03
	10	6.374E-02*	3.695E-03	.000	5.62439E-02	7.12311E-02
	11	7.514E-02*	3.695E-03	.000	6.76439E-02	8.26311E-02
	12	8.220E-02*	3.695E-03	.000	7.47064E-02	8.96936E-02
	2	1	-3.275E-03	3.695E-03	.381	-1.07686E-02
3		3.500E-04	3.695E-03	.925	-7.14363E-03	7.84363E-03
4		-2.587E-03	3.695E-03	.488	-1.00811E-02	4.90813E-03
5		-5.050E-03	3.695E-03	.180	-1.25438E-02	2.44363E-03
6		3.080E-02*	3.695E-03	.000	2.33064E-02	3.82936E-02
7		3.572E-02*	3.695E-03	.000	2.82314E-02	4.32186E-02
8		4.511E-02*	3.695E-03	.000	3.76189E-02	5.26061E-02
9		-2.050E-03	3.695E-03	.582	-8.54363E-03	5.44363E-03
10		6.046E-02*	3.695E-03	.000	5.29689E-02	6.79561E-02
11		7.166E-02*	3.695E-03	.000	6.43689E-02	7.93561E-02
12		7.892E-02*	3.695E-03	.000	7.14314E-02	8.64186E-02
3		1	-3.625E-03	3.695E-03	.333	-1.11186E-02
	2	-3.500E-04	3.695E-03	.925	-7.84363E-03	7.14363E-03
	4	-2.937E-03	3.695E-03	.432	-1.04311E-02	4.55613E-03
	5	-5.400E-03	3.695E-03	.153	-1.28938E-02	2.09363E-03
	6	3.045E-02*	3.695E-03	.000	2.25564E-02	3.79436E-02
	7	3.538E-02*	3.695E-03	.000	2.78814E-02	4.28686E-02
	8	4.476E-02*	3.695E-03	.000	3.72689E-02	5.22561E-02
	9	-2.400E-03	3.695E-03	.520	-8.89363E-03	5.09363E-03
	10	6.011E-02*	3.695E-03	.000	5.26189E-02	6.76061E-02
	11	7.151E-02*	3.695E-03	.000	6.40189E-02	7.90061E-02
	12	7.853E-02*	3.695E-03	.000	7.10814E-02	8.60686E-02

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BERTESTI

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-6.875E-04	3.695E-03	.853	-8.18113E-03	6.80613E-03
	2	2.587E-03	3.695E-03	.488	-4.90613E-03	1.00811E-02
	3	2.937E-03	3.695E-03	.432	-4.55613E-03	1.04311E-02
	5	-2.483E-03	3.695E-03	.509	-9.95613E-03	5.03113E-03
	6	3.339E-02*	3.695E-03	.000	2.58939E-02	4.08811E-02
	7	3.831E-02*	3.695E-03	.000	3.08189E-02	4.58061E-02
	8	4.770E-02*	3.695E-03	.000	4.02064E-02	5.51936E-02
	9	5.375E-04	3.695E-03	.685	-6.95613E-03	8.03113E-03
	10	6.305E-02*	3.695E-03	.000	5.65664E-02	7.05436E-02
	11	7.445E-02*	3.695E-03	.000	6.69564E-02	8.19436E-02
	12	8.151E-02*	3.695E-03	.000	7.40189E-02	8.90061E-02
	5	1	1.775E-03	3.695E-03	.634	-5.71863E-03
2		5.050E-03	3.695E-03	.180	-2.44063E-03	1.25436E-02
3		5.400E-03	3.695E-03	.153	-2.09363E-03	1.28936E-02
4		2.463E-03	3.695E-03	.509	-5.03113E-03	9.95613E-03
6		3.585E-02*	3.695E-03	.000	2.83564E-02	4.33436E-02
7		4.078E-02*	3.695E-03	.000	3.32814E-02	4.82686E-02
8		5.016E-02*	3.695E-03	.000	4.26689E-02	5.76561E-02
9		3.000E-03	3.695E-03	.422	-4.49363E-03	1.04936E-02
10		6.551E-02	3.695E-03	.000	5.80189E-02	7.30061E-02
11		7.691E-02*	3.695E-03	.000	6.94189E-02	8.44061E-02
12		8.398E-02*	3.695E-03	.000	7.64814E-02	9.14686E-02
6		1	-3.408E-02*	3.695E-03	.000	-4.15686E-02
	2	-3.080E-02*	3.695E-03	.000	-3.82936E-02	-2.33064E-02
	3	-3.045E-02*	3.695E-03	.000	-3.79436E-02	-2.29564E-02
	4	-3.339E-02*	3.695E-03	.000	-4.08811E-02	-2.58939E-02
	5	-3.585E-02*	3.695E-03	.000	-4.33436E-02	-2.93564E-02
	7	4.925E-03	3.695E-03	.191	-2.50363E-03	7.24189E-03
	8	1.431E-02*	3.695E-03	.000	6.81887E-03	2.18061E-02
	9	-3.285E-02*	3.695E-03	.000	-4.03436E-02	-2.53564E-02
	10	2.966E-02*	3.695E-03	.000	2.21689E-02	3.71561E-02
	11	4.105E-02*	3.695E-03	.000	3.35589E-02	4.85561E-02
	12	4.812E-02*	3.695E-03	.000	4.06314E-02	5.56186E-02

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BERTESTI
LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-3.900E-02*	3.695E-03	.000	-4.64936E-02	-3.15064E-02
	2	-3.572E-02*	3.695E-03	.000	-4.32186E-02	-2.82314E-02
	3	-3.538E-02*	3.695E-03	.000	-4.20586E-02	-2.78114E-02
	4	-3.891E-02*	3.695E-03	.000	-4.58061E-02	-3.08189E-02
	5	-4.078E-02*	3.695E-03	.000	-4.82686E-02	-3.32814E-02
	6	-4.925E-03	3.695E-03	.191	-1.24186E-02	2.56636E-03
	8	9.387E-03	3.695E-03	.016	1.89387E-03	1.68811E-02
	9	-3.778E-02*	3.695E-03	.000	-4.52686E-02	-3.02814E-02
	10	2.474E-02*	3.695E-03	.000	1.72436E-02	3.22311E-02
	11	3.614E-02*	3.695E-03	.000	2.86436E-02	4.36311E-02
	12	4.320E-02*	3.695E-03	.000	3.57064E-02	5.06936E-02
	8	1	-4.839E-02*	3.695E-03	.000	-5.58811E-02
2		-4.511E-02*	3.695E-03	.000	-5.26061E-02	-3.76189E-02
3		-4.476E-02*	3.695E-03	.000	-5.22561E-02	-3.72689E-02
4		-4.770E-02*	3.695E-03	.000	-5.51936E-02	-4.02364E-02
5		-5.016E-02*	3.695E-03	.000	-5.76561E-02	-4.26989E-02
6		-1.431E-02	3.695E-03	.000	-2.18061E-02	-6.81887E-03
7		-9.087E-03	3.695E-03	.016	-1.58811E-02	-1.99387E-02
9		-4.716E-02*	3.695E-03	.000	-5.46561E-02	-3.96899E-02
10		1.135E-02	3.695E-03	.000	7.86637E-03	2.28436E-02
11		2.675E-02*	3.695E-03	.000	1.92581E-02	3.42436E-02
12		3.381E-02*	3.695E-03	.000	2.63189E-02	4.13061E-02
9		1	0.255E-02	3.695E-03	.191	-1.11061E-02
	2	1.050E-03	3.695E-03	.592	-1.44704E-02	9.54363E-03
	3	2.400E-03	3.695E-03	.520	-5.09363E-03	9.89363E-03
	4	3.175E-02	3.695E-03	.017	1.11136E-02	5.23811E-02
	5	2.000E-03	3.695E-03	.412	-1.04936E-02	1.49363E-02
	6	3.285E-02*	3.695E-03	.000	2.53564E-02	4.03436E-02
	7	3.570E-02*	3.695E-03	.000	2.82714E-02	4.52686E-02
	8	4.716E-02*	3.695E-03	.000	3.96899E-02	5.46561E-02
	10	5.251E-02*	3.695E-03	.000	5.50189E-02	7.00311E-02
	11	7.391E-02*	3.695E-03	.000	6.84189E-02	8.14189E-02
	12	8.097E-02*	3.695E-03	.000	7.34814E-02	8.84899E-02

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BERTESTI

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-6.374E-02*	3.695E-03	.000	-7.12311E-02	-5.62439E-02
	2	-6.046E-02*	3.695E-03	.000	-6.79561E-02	-5.29689E-02
	3	-6.011E-02*	3.695E-03	.000	-6.76061E-02	-5.26189E-02
	4	-6.305E-02*	3.695E-03	.000	-7.05436E-02	-5.55584E-02
	5	-6.551E-02*	3.695E-03	.000	-7.30061E-02	-5.80189E-02
	6	-2.966E-02*	3.695E-03	.000	-3.71561E-02	-2.21689E-02
	7	-2.474E-02*	3.695E-03	.000	-3.22311E-02	-1.72439E-02
	8	-1.535E-02*	3.695E-03	.000	-2.28436E-02	-7.85637E-03
	9	-6.251E-02*	3.695E-03	.000	-7.00061E-02	-5.50189E-02
	11	1.140E-02*	3.695E-03	.004	3.90637E-03	1.88936E-02
	12	1.846E-02*	3.695E-03	.000	1.09689E-02	2.59561E-02
	11	1	-7.514E-02*	3.695E-03	.000	-8.26311E-02
2		-7.186E-02*	3.695E-03	.000	-7.93561E-02	-6.43689E-02
3		-7.151E-02*	3.695E-03	.000	-7.80061E-02	-6.40189E-02
4		-7.445E-02*	3.695E-03	.000	-8.19436E-02	-6.69564E-02
5		-7.691E-02*	3.695E-03	.000	-8.44061E-02	-6.94189E-02
6		-4.106E-02*	3.695E-03	.000	-4.85561E-02	-3.35689E-02
7		-3.614E-02*	3.695E-03	.000	-4.36311E-02	-2.86439E-02
8		-2.675E-02*	3.695E-03	.000	-3.42436E-02	-1.92584E-02
9		-7.391E-02*	3.695E-03	.000	-8.14061E-02	-6.64189E-02
10		-1.140E-02*	3.695E-03	.004	-1.88936E-02	-3.90637E-03
12		7.062E-03	3.695E-03	.064	-4.31125E-04	1.45561E-02
12		1	-8.220E-02*	3.695E-03	.000	-8.96936E-02
	2	-7.892E-02*	3.695E-03	.000	-8.64186E-02	-7.14314E-02
	3	-7.858E-02*	3.695E-03	.000	-8.60686E-02	-7.10814E-02
	4	-8.151E-02*	3.695E-03	.000	-8.90061E-02	-7.40189E-02
	5	-8.398E-02*	3.695E-03	.000	-9.14686E-02	-7.64814E-02
	6	-4.812E-02*	3.695E-03	.000	-5.56186E-02	-4.06314E-02
	7	-4.320E-02*	3.695E-03	.000	-5.06936E-02	-3.57064E-02
	8	-3.381E-02*	3.695E-03	.000	-4.13061E-02	-2.63189E-02
	9	-8.097E-02*	3.695E-03	.000	-8.84686E-02	-7.34814E-02
	10	-1.846E-02*	3.695E-03	.000	-2.59561E-02	-1.09689E-02
	11	-7.062E-03	3.695E-03	.064	-1.45561E-02	4.31125E-04

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 4 Berat testis 35 hari setelah akhir perlakuan

	lama	suhu	rebertes
1	1	1	.1250
2	1	1	.1256
3	1	1	.1275
4	1	1	.1278
5	1	2	.1296
6	1	2	.1258
7	1	2	.1266
8	1	2	.1283
9	1	3	.1290
10	1	3	.1293
11	1	3	.1240
12	1	3	.1264
13	1	4	.1080
14	1	4	.1235
15	1	4	.1363
16	1	4	.1175
17	2	1	.1388
18	2	1	.1250
19	2	1	.1300
20	2	1	.1295
21	2	2	.0992
22	2	2	.0885
23	2	3	.0952
24	2	2	.0945
25	2	3	.0825
26	2	3	.0850
27	2	3	.0925
28	2	3	.0853
29	2	4	.0825
30	2	4	.0755
31	2	4	.0785
32	2	4	.0725
33	3	1	.1300
34	3	1	.1300
35	3	1	.1273
36	3	1	.1313
37	3	2	.0600
38	3	2	.0623
39	3	2	.0673

	lama	suhu	rebertes
40	3	2	.0675
41	3	3	.0523
42	3	3	.0520
43	3	3	.0925
44	3	3	.0585
45	3	4	.0425
46	3	4	.0375
47	3	4	.0453
48	3	4	.0483

Lampiran 5 Hasil uji analisis varian dua arah berat testis 35 hari setelah akhir perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	16
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: REBERTES

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Intercept	Hypothesis	.475	1	.475	91.963	.002
	Error	1.548E-02	3	5.161E-03 ^a		
LAMA	Hypothesis	2.060E-02	2	1.030E-02	7.566	.023
	Error	8.167E-03	6	1.361E-03 ^a		
SUHU	Hypothesis	1.548E-02	3	5.161E-03	3.791	.077
	Error	8.167E-03	6	1.361E-03 ^b		
LAMA * SUHU	Hypothesis	8.167E-03	6	1.361E-03	25.500	.000
	Error	1.922E-03	36	5.338E-05 ^c		

- a. MS(SUHU)
- b. MS(LAMA * SUHU)
- c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	12.000	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	12.000	4.000	1.000	
LAMA * SUHU	.000	4.000	1.000	
Error	.000	.000	1.000	

- a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.
- b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Estimated Marginal Means

Lampiran 6 Hasil uji BNT berat testis 35 hari setelah akhir perlakuan

1. Grand Mean

Dependent Variable: REBERTES

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
9.943E-02	.001	9.730E-02	.102

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: REBERTES

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	.126	.002	.122	.130
2	9.718E-02	.002	9.348E-02	.101
3	7.527E-02	.002	7.156E-02	7.897E-02

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: REBERTES

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	2.868E-02*	.003	.000	2.344E-02	3.391E-02
	3	6.059E-02*	.003	.000	4.636E-02	5.583E-02
2	1	-2.868E-02*	.003	.000	-3.391E-02	-2.344E-02
	3	2.192E-02*	.003	.010	1.668E-02	2.715E-02
3	1	-5.058E-02*	.003	.000	-5.583E-02	-4.535E-02
	2	-2.192E-02*	.003	.000	-2.715E-02	-1.668E-02

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: REBERTES

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2.060E-02	2	1.030E-02	192.922	.000
Error	1.922E-03	36	5.338E-05		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: REBERTES

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	.129	.002	.125	.133
2	9.579E-02	.002	9.151E-02	.100
3	9.243E-02	.002	8.815E-02	9.671E-02
4	8.056E-02	.002	7.629E-02	8.484E-02

Fairwise Comparisons

Dependent Variable: REBERTES

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	3.317E-02*	.003	.000	2.712E-02	3.922E-02
	3	3.653E-02*	.003	.000	3.048E-02	4.258E-02
	4	4.839E-02*	.003	.000	4.235E-02	5.444E-02
2	1	-3.317E-02 ^a	.003	.000	-3.922E-02	-2.712E-02
	3	3.356E-03	.003	.268	-2.693E-03	9.406E-03
	4	1.522E-02 ^a	.003	.000	9.172E-03	2.127E-02
3	1	-3.653E-02 ^a	.003	.000	-4.258E-02	-3.048E-02
	2	-3.356E-03	.003	.268	-9.406E-03	2.693E-03
	4	1.187E-02 ^a	.003	.000	5.816E-03	1.791E-02
4	1	-4.839E-02 ^a	.003	.000	-5.444E-02	-4.235E-02
	2	-1.522E-02 ^a	.003	.000	-2.127E-02	-9.172E-03
	3	-1.187E-02 ^a	.003	.000	-1.791E-02	-5.816E-03

Based on estimated marginal means.

^a The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: REBERTES

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	1.548E-02	3	5.161E-03	96.673	.000
Error	1.922E-03	36	5.338E-05		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: REBERTES

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	.126	.004	.119	.134
	2	.129	.004	.121	.136
	3	.127	.004	.120	.135
	4	.121	.004	.114	.128
2	1	.131	.004	.123	.138
	2	9.434E-02	.004	8.693E-02	.102
	3	8.631E-02	.004	7.890E-02	9.372E-02
	4	7.726E-02	.004	6.884E-02	8.466E-02
3	1	.130	.004	.122	.137
	2	6.426E-02	.004	5.684E-02	7.166E-02
	3	6.381E-02	.004	5.640E-02	7.122E-02
	4	4.337E-02	.004	3.597E-02	5.078E-02

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: REBERTES

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-2.325E-03	5.166E-03	.655	-1.28028E-02	8.15282E-03
	3	-7.250E-04	5.166E-03	.889	-1.12028E-02	9.75282E-03
	4	5.375E-03	5.166E-03	.305	-5.10282E-03	1.58528E-02
	5	-4.375E-03	5.166E-03	.403	-1.48528E-02	6.10282E-03
	6	3.209E-02*	5.166E-03	.000	2.16159E-02	4.25716E-02
	7	4.013E-02*	5.166E-03	.000	2.96472E-02	5.06028E-02
	8	4.918E-02*	5.166E-03	.000	3.87059E-02	5.96616E-02
	9	-3.187E-03	5.166E-03	.541	-1.36653E-02	7.25032E-03
	10	6.219E-02*	5.166E-03	.000	5.17097E-02	7.26653E-02
	11	6.263E-02*	5.166E-03	.000	5.21472E-02	7.31028E-02
	12	8.305E-02*	5.166E-03	.000	7.25847E-02	9.35403E-02
	2	1	2.325E-03	5.166E-03	.655	-8.15282E-03
3		1.600E-03	5.166E-03	.759	-8.87782E-03	1.20778E-02
4		7.700E-03	5.166E-03	.145	-2.77782E-03	1.81778E-02
5		-2.050E-03	5.166E-03	.694	-1.25278E-02	8.42782E-03
6		3.442E-02*	5.166E-03	.000	2.39409E-02	4.48966E-02
7		4.245E-02*	5.166E-03	.000	3.19722E-02	5.29278E-02
8		5.151E-02*	5.166E-03	.000	4.10309E-02	6.19866E-02
9		-8.625E-04	5.166E-03	.868	-1.13403E-02	9.61532E-03
10		6.451E-02*	5.166E-03	.000	5.40347E-02	7.49903E-02
11		6.495E-02*	5.166E-03	.000	5.44722E-02	7.54278E-02
12		8.539E-02*	5.166E-03	.000	7.49097E-02	9.58653E-02
3		1	7.250E-04	5.166E-03	.889	-9.75282E-03
	2	-1.600E-03	5.166E-03	.759	-1.20778E-02	8.87782E-03
	4	6.100E-03	5.166E-03	.245	-4.37782E-03	1.65778E-02
	5	-3.650E-03	5.166E-03	.484	-1.41278E-02	6.82782E-03
	6	3.282E-02*	5.166E-03	.000	2.23409E-02	4.32966E-02
	7	4.085E-02*	5.166E-03	.000	3.03722E-02	5.13278E-02
	8	4.991E-02*	5.166E-03	.000	3.94309E-02	6.03866E-02
	9	-2.462E-03	5.166E-03	.636	-1.29403E-02	8.01532E-03
	10	6.291E-02*	5.166E-03	.000	5.24347E-02	7.33903E-02
	11	6.335E-02*	5.166E-03	.000	5.28722E-02	7.38278E-02
	12	8.379E-02*	5.166E-03	.000	7.33097E-02	9.42653E-02

Multiple Comparisons

Dependent Variable: REBERTES

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-5.375E-03	5.166E-03	.305	-1.58528E-02	5.10282E-03
	2	-7.700E-03	5.166E-03	.145	-1.81778E-02	2.77782E-03
	3	-6.100E-03	5.166E-03	.245	-1.65778E-02	4.37782E-03
	5	-9.750E-03	5.166E-03	.087	-2.02278E-02	7.27821E-04
	6	2.672E-02*	5.166E-03	.000	1.62409E-02	3.71966E-02
	7	3.475E-02*	5.166E-03	.000	2.42722E-02	4.52278E-02
	8	4.381E-02*	5.166E-03	.000	3.33309E-02	5.42866E-02
	9	-8.562E-03	5.166E-03	.106	-1.90403E-02	1.91532E-03
	10	5.681E-02*	5.166E-03	.000	4.63347E-02	6.72903E-02
	11	5.725E-02*	5.166E-03	.000	4.67722E-02	6.77278E-02
	12	7.769E-02*	5.166E-03	.000	6.72097E-02	8.81653E-02
	5	1	4.375E-03	5.166E-03	.403	-6.10282E-03
2		2.050E-03	5.166E-03	.694	-8.42782E-03	1.25278E-02
3		3.650E-03	5.166E-03	.484	-6.82782E-03	1.41278E-02
4		9.750E-03	5.166E-03	.067	-7.27821E-04	2.02278E-02
6		3.647E-02*	5.166E-03	.000	2.59909E-02	4.69466E-02
7		4.450E-02*	5.166E-03	.000	3.40222E-02	5.49778E-02
8		5.356E-02*	5.166E-03	.000	4.30809E-02	6.40366E-02
9		1.188E-03	5.166E-03	.820	-9.29032E-03	1.16653E-02
10		6.656E-02*	5.166E-03	.000	5.60947E-02	7.70403E-02
11		6.700E-02*	5.166E-03	.000	5.65222E-02	7.74778E-02
12		8.744E-02*	5.166E-03	.000	7.69597E-02	9.79153E-02
6		1	-3.209E-02*	5.166E-03	.000	-4.25716E-02
	2	-3.442E-02*	5.166E-03	.000	-4.48966E-02	-2.39409E-02
	3	-3.282E-02*	5.166E-03	.000	-4.32566E-02	-2.23409E-02
	4	-2.672E-02*	5.166E-03	.000	-3.71966E-02	-1.62409E-02
	5	-3.647E-02*	5.166E-03	.000	-4.69466E-02	-2.59909E-02
	7	8.031E-03	5.166E-03	.129	-2.44657E-03	1.85091E-02
	8	1.709E-02*	5.166E-03	.002	6.61218E-03	2.75678E-02
	9	-3.528E-02*	5.166E-03	.000	-4.57591E-02	-2.48034E-02
	10	3.009E-02*	5.166E-03	.000	1.96159E-02	4.05716E-02
	11	3.053E-02*	5.166E-03	.000	2.00534E-02	4.10091E-02
	12	5.097E-02*	5.166E-03	.000	4.04609E-02	6.14466E-02

Multiple Comparisons

Dependent Variable: REBERTES

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-4.013E-02*	5.166E-03	.000	-5.06028E-02	-2.96472E-02
	2	-4.245E-02*	5.166E-03	.000	-5.29278E-02	-3.19722E-02
	3	-4.085E-02*	5.166E-03	.000	-5.13278E-02	-3.03722E-02
	4	-3.475E-02*	5.166E-03	.000	-4.52278E-02	-2.42722E-02
	5	-4.450E-02*	5.166E-03	.000	-5.49778E-02	-3.40222E-02
	6	-8.031E-03	5.166E-03	.129	-1.85091E-02	2.44657E-03
	8	9.059E-03	5.166E-03	.088	-1.41907E-03	1.95366E-02
	9	-4.331E-02*	5.166E-03	.000	-5.37903E-02	-3.28347E-02
	10	2.208E-02*	5.166E-03	.000	1.15847E-02	3.25403E-02
	11	2.250E-02*	5.166E-03	.000	1.20222E-02	3.29778E-02
	12	4.294E-02*	5.166E-03	.000	3.24597E-02	5.34153E-02
	8	1	-4.913E-02*	5.166E-03	.000	-5.96616E-02
2		-5.151E-02*	5.166E-03	.000	-6.19866E-02	-4.10309E-02
3		-4.991E-02*	5.166E-03	.000	-6.03866E-02	-3.94309E-02
4		-4.381E-02*	5.166E-03	.000	-5.42866E-02	-3.33309E-02
5		-5.356E-02*	5.166E-03	.000	-6.40366E-02	-4.30809E-02
6		-1.709E-02*	5.166E-03	.002	-2.75678E-02	-6.61218E-03
7		-9.059E-03	5.166E-03	.088	-1.95366E-02	1.41907E-03
9		-5.237E-02*	5.166E-03	.000	-6.28491E-02	-4.18934E-02
10		1.300E-02*	5.166E-03	.016	2.52593E-03	2.34816E-02
11		1.344E-02*	5.166E-03	.013	2.96343E-03	2.39191E-02
12		3.388E-02*	5.166E-03	.000	2.34009E-02	4.43666E-02
9		1	3.187E-03	5.166E-03	.541	-7.29032E-03
	2	8.625E-04	5.166E-03	.868	-9.61532E-03	1.13403E-02
	3	2.462E-03	5.166E-03	.636	-3.01532E-03	1.29403E-02
	4	8.562E-03	5.166E-03	.106	-1.91532E-03	1.90403E-02
	5	-1.188E-03	5.166E-03	.820	-1.16653E-02	9.29032E-03
	6	3.528E-02*	5.166E-03	.000	2.48034E-02	4.57591E-02
	7	4.331E-02*	5.166E-03	.000	3.28347E-02	5.37903E-02
	8	5.237E-02*	5.166E-03	.000	4.18934E-02	6.28491E-02
	10	6.537E-02*	5.166E-03	.000	5.46972E-02	7.58528E-02
	11	6.581E-02*	5.166E-03	.000	5.53347E-02	7.62903E-02
	12	8.625E-02*	5.166E-03	.000	7.57722E-02	9.67278E-02

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RESERTES

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-8.219E-02*	5.166E-03	.000	-7.26653E-02	-5.17097E-02
	2	-6.451E-02*	5.166E-03	.000	-7.49903E-02	-5.40347E-02
	3	-6.291E-02*	5.166E-03	.000	-7.33903E-02	-5.24347E-02
	4	-5.681E-02*	5.166E-03	.000	-6.72903E-02	-4.63347E-02
	5	-5.656E-02*	5.166E-03	.000	-7.70403E-02	-5.60847E-02
	6	-3.009E-02*	5.166E-03	.000	-4.05716E-02	-1.96159E-02
	7	-2.206E-02*	5.166E-03	.000	-3.25403E-02	-1.15847E-02
	8	-1.300E-02*	5.166E-03	.015	-2.34819E-02	-2.52593E-03
	9	-8.537E-02*	5.166E-03	.000	-7.58528E-02	-5.48972E-02
	11	4.375E-04	5.166E-03	.933	-1.00403E-02	1.09153E-02
	12	2.088E-02*	5.166E-03	.000	1.03972E-02	3.13528E-02
	11	1	-8.263E-02*	5.166E-03	.000	-7.31028E-02
2		-6.495E-02*	5.166E-03	.000	-7.54278E-02	-5.44722E-02
3		-6.335E-02*	5.166E-03	.000	-7.38278E-02	-5.28722E-02
4		-5.725E-02*	5.166E-03	.000	-6.77278E-02	-4.67722E-02
5		-5.700E-02*	5.166E-03	.000	-7.74778E-02	-5.65222E-02
6		-3.053E-02*	5.166E-03	.000	-4.10091E-02	-2.00634E-02
7		-2.250E-02*	5.166E-03	.000	-3.29778E-02	-1.20222E-02
8		-1.344E-02*	5.166E-03	.013	-2.39191E-02	-2.96343E-03
9		-8.581E-02*	5.166E-03	.000	-7.62903E-02	-5.53347E-02
10		-4.375E-04	5.166E-03	.933	-1.09153E-02	1.00403E-02
12		2.044E-02*	5.166E-03	.000	9.95968E-03	3.09153E-02
12		1	-8.306E-02*	5.166E-03	.000	-9.35403E-02
	2	-8.539E-02*	5.166E-03	.000	-9.58653E-02	-7.49097E-02
	3	-8.379E-02*	5.166E-03	.000	-9.42653E-02	-7.33097E-02
	4	-7.769E-02*	5.166E-03	.000	-8.81953E-02	-6.72097E-02
	5	-8.744E-02*	5.166E-03	.000	-9.79153E-02	-7.69597E-02
	6	-5.097E-02*	5.166E-03	.000	-6.14466E-02	-4.04909E-02
	7	-4.294E-02*	5.166E-03	.000	-5.34153E-02	-3.24597E-02
	8	-3.388E-02*	5.166E-03	.000	-4.43666E-02	-2.34009E-02
	9	-8.625E-02*	5.166E-03	.000	-9.67278E-02	-7.57722E-02
	10	-2.088E-02*	5.166E-03	.000	-3.13528E-02	-1.03972E-02
	11	-2.044E-02*	5.166E-03	.000	-3.09153E-02	-9.95968E-03

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 7 Diameter Tubulus seminiferus 1 hari setelah akhir perlakuan

	lama	suhu	di1	di2	di3	di4	di5	jumdi	rdia
1	1	1	178.5	168	158	168	168.0	840.00	168.00
2	1	1	168.0	158	189	147	168.0	829.50	165.90
3	1	1	168.0	168	189	168	178.5	871.50	174.30
4	1	1	147.0	168	179	168	168.0	829.50	165.90
5	1	2	168.0	168	168	158	147.0	808.50	161.70
6	1	2	168.0	158	168	168	157.5	819.00	163.80
7	1	2	178.5	168	158	168	168.0	840.00	168.00
8	1	2	168.0	168	158	147	157.5	798.00	159.80
9	1	3	168.0	147	158	168	157.5	798.00	159.60
10	1	3	168.0	168	158	147	157.5	798.00	159.60
11	1	3	168.0	158	168	147	168.0	808.50	161.70
12	1	3	147.0	168	168	158	147.0	787.50	157.50
13	1	4	157.5	158	168	147	168.0	798.00	159.60
14	1	4	168.0	168	147	158	147.0	787.50	157.50
15	1	4	168.0	168	147	147	157.5	787.50	157.50
16	1	4	147.0	147	158	168	157.5	777.00	156.40
17	2	1	178.5	168	168	158	168.0	840.00	168.00
18	2	1	157.5	158	168	168	178.5	829.50	165.90
19	2	1	168.0	168	179	168	168.0	850.50	170.10
20	2	1	178.5	168	168	158	157.5	829.50	165.90
21	2	2	147.0	158	137	137	147.0	724.50	144.90
22	2	2	147.0	137	147	158	142.0	730.00	146.00
23	2	2	147.0	137	158	158	147.0	745.50	149.10
24	2	2	168.0	158	147	147	157.5	777.00	155.40
25	2	3	126.0	116	147	126	147.0	661.50	132.30
26	2	3	147.0	126	126	147	147.0	693.00	136.60
27	2	3	147.0	126	147	126	136.5	682.50	136.50
28	2	3	115.5	147	158	147	157.5	724.50	144.90
29	2	4	105.0	94.5	105	94.5	94.5	493.50	98.70
30	2	4	105.0	105	94.5	105	94.5	504.00	100.80
31	2	4	126.0	105	94.5	94.5	126.0	546.00	109.20
32	2	4	105.0	94.5	94.5	105	126.0	525.00	105.00
33	3	1	178.5	168	179	168	189.0	882.00	176.40
34	3	1	157.5	168	179	179	168.0	850.50	170.10
35	3	1	168.0	179	168	179	168.0	861.00	172.20
36	3	1	178.5	168	168	168	178.5	861.00	172.20
37	3	2	147.0	137	126	137	136.5	682.50	136.50
38	3	2	157.0	147	137	126	136.5	703.00	140.60
39	3	2	136.5	147	137	126	136.5	682.50	136.50

	lama	suhu	di1	di2	di3	di4	di5	jumlah	rdia
40	3	2	147.0	137	147	126	105.0	661.50	132.30
41	3	3	126.0	137	126	137	126.0	651.00	130.20
42	3	3	147.0	147	137	137	147.0	714.00	142.80
43	3	3	126.0	105	126	137	126.0	619.50	123.90
44	3	3	147.0	137	126	105	94.5	609.00	121.80
45	3	4	105.0	126	105	126	105.0	567.00	113.40
46	3	4	94.5	94.5	94.5	105	94.5	483.00	98.60
47	3	4	105.0	126	94.5	94.5	105.0	525.00	105.00
48	3	4	126.0	126	105	94.5	105.0	556.50	111.30

Lampiran 8 Hasil uji analisis varian dua arah diameter tubulus seminiferus 1 hari setelah akhir perlakuan.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	16
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RDIA

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	1023372.410	1	1023372.410	225.787	.001
	Error	13597.401	3	4532.467 ^a		
LAMA	Hypothesis	6383.233	2	3191.616	4.359	.068
	Error	4393.489	6	732.248 ^b		
SUHU	Hypothesis	13597.401	3	4532.467	6.190	.029
	Error	4393.489	6	732.248 ^b		
LAMA * SUHU	Hypothesis	4393.489	6	732.248	31.977	.000
	Error	824.378	36	22.899 ^c		

- a. MS(SUHU)
- b. MS(LAMA * SUHU)
- c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	12.000	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	12.000	4.000	1.000	
LAMA * SUHU	.000	4.000	1.000	
Error	.000	.000	1.000	

- a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.
- b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Estimated Marginal Means

Lampiran 9 Hasil uji BNT diameter tubulus seminiferus 1 hari setelah akhir perlakuan

Dependent Variable: RDIA

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
146.015	.691	144.614	147.415

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RDIA

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	162.225	1.196	159.799	164.651
2	139.456	1.196	137.030	141.883
3	136.362	1.196	133.936	138.789

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RDIA

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	22.769*	1.692	.000	19.337	26.200
	3	25.863*	1.692	.000	22.431	29.294
2	1	-22.769*	1.692	.000	-26.200	-19.337
	3	3.094	1.692	.076	-.338	6.525
3	1	-25.863*	1.692	.000	-29.294	-22.431
	2	-3.094	1.692	.076	-6.525	.338

Based on estimated marginal means

- *. The mean difference is significant at the .05 level.
- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: RDIA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	6383.233	2	3191.616	139.376	.000
Error	824.378	36	22.899		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RDIA

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	169.575	1.381	166.773	172.377
2	149.533	1.381	146.732	152.335
3	142.450	1.381	139.648	145.252
4	122.500	1.381	119.698	125.302

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RDIA

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	20.042*	1.954	.000	16.080	24.004
	3	27.125*	1.954	.000	23.153	31.087
	4	47.075*	1.954	.000	43.113	51.037
2	1	-20.042*	1.954	.000	-24.004	-16.080
	3	7.083*	1.954	.001	3.121	11.045
	4	27.033*	1.954	.000	23.071	30.995
3	1	-27.125*	1.954	.000	-31.087	-23.163
	2	-7.083*	1.954	.001	-11.045	-3.121
	4	19.950*	1.954	.000	15.988	23.912
4	1	-47.075*	1.954	.000	-51.037	-43.113
	2	-27.033*	1.954	.000	-30.995	-23.071
	3	-19.950*	1.954	.000	-23.912	-15.988

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons. Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: RDIA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	13597.401	3	4532.467	197.930	.000
Error	824.378	36	22.899		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RDIA

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	168.525	2.393	163.672	173.378
	2	163.275	2.393	158.422	168.128
	3	159.600	2.393	154.747	164.453
	4	157.500	2.393	152.647	162.353
2	1	167.475	2.393	162.622	172.328
	2	148.850	2.393	143.997	153.703
	3	138.075	2.393	133.222	142.928
	4	103.426	2.393	98.572	108.278
3	1	172.725	2.393	167.872	177.578
	2	136.475	2.393	131.622	141.328
	3	129.675	2.393	124.822	134.528
	4	106.575	2.393	101.722	111.428

Oneway

ANOVA

RDIA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24374.122	11	2215.829	96.764	.000
Within Groups	824.378	36	22.899		
Total	25198.500	47			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RDIA

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	6.2500	3.3837	.130	-1.6125	12.1125
	3	8.9250*	3.3837	.012	2.0625	16.7875
	4	11.0250*	3.3837	.002	4.1625	17.8875
	5	1.0500	3.3837	.758	-5.8125	7.9125
	6	19.6750*	3.3837	.000	12.8125	26.5375
	7	30.4500*	3.3837	.000	23.5875	37.3125
	8	65.1000*	3.3837	.000	58.2375	71.9625
	9	-4.2000	3.3837	.223	-11.0625	2.6625
	10	32.0500*	3.3837	.000	25.1675	38.9125
	11	38.8500*	3.3837	.000	31.9875	45.7125
	12	61.9500*	3.3837	.000	55.0875	68.8125
2	1	-5.2500	3.3837	.130	-12.1125	1.6125
	3	3.6750	3.3837	.285	-3.1875	10.5375
	4	5.7750	3.3837	.096	-1.0875	12.6375
	5	-4.2000	3.3837	.223	-11.0625	2.6625
	6	14.4250*	3.3837	.000	7.5625	21.2875
	7	25.2000*	3.3837	.000	18.3375	32.0625
	8	59.8500*	3.3837	.000	52.9875	66.7125
	9	-9.4500*	3.3837	.008	-16.3125	-2.5875
	10	26.8000*	3.3837	.000	19.9375	33.6625
	11	33.6000*	3.3837	.000	26.7375	40.4625
	12	56.7000*	3.3837	.000	49.8375	63.5625

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RDIA

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
3	1	-8.9250*	3.3837	.012	-15.7875	-2.0625
	2	-3.6750	3.3837	.285	-10.5375	3.1875
	4	2.1000	3.3837	.539	-4.7825	8.9625
	5	-7.8750*	3.3837	.026	-14.7375	-1.0125
	6	10.7500*	3.3837	.003	3.8875	17.6125
	7	21.5250*	3.3837	.000	14.6625	28.3875
	8	56.1750*	3.3837	.000	49.3125	63.0375
	9	-13.1250*	3.3837	.000	-19.9875	-6.2625
	10	23.1250*	3.3837	.000	16.2625	29.9875
	11	29.9250*	3.3837	.000	23.0625	36.7875
	12	53.0250*	3.3837	.000	46.1625	59.8875
	4	1	-11.0250*	3.3837	.002	-17.8875
2		-5.7750	3.3837	.096	-12.6375	1.0875
3		-2.1000	3.3837	.539	-8.9625	4.7625
5		-9.9750*	3.3837	.006	-16.8375	-3.1125
6		8.6500*	3.3837	.015	1.7875	15.5125
7		19.4250*	3.3837	.000	12.5625	26.2875
8		54.0750*	3.3837	.000	47.2125	60.9375
9		-15.2250*	3.3837	.000	-22.0875	-8.3825
10		21.0250*	3.3837	.000	14.1625	27.8875
11		27.8250*	3.3837	.000	20.9625	34.6875
12		60.9250*	3.3837	.000	44.0625	67.7875
5		1	-1.0500	3.3837	.758	-7.9125
	2	4.2000	3.3837	.223	-2.6625	11.0625
	3	7.8750*	3.3837	.026	1.0125	14.7375
	4	9.9750*	3.3837	.006	3.1125	16.8375
	6	18.6250*	3.3837	.000	11.7625	25.4875
	7	29.4000*	3.3837	.000	22.5375	36.2625
	8	64.0500*	3.3837	.000	57.1875	70.9125
	9	-5.2500	3.3837	.130	-12.1125	1.6125
	10	31.0000*	3.3837	.000	24.1375	37.8625
	11	37.8000*	3.3837	.000	30.9375	44.6625
	12	60.9000*	3.3837	.000	54.0375	67.7625



Multiple Comparisons

Dependent Variable: RDIA
LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
6	1	-19.6750*	3.3837	.000	-26.6375	-12.8125
	2	-14.4250*	3.3837	.000	-21.2875	-7.5625
	3	-10.7500*	3.3837	.003	-17.6125	-3.8875
	4	-8.8500*	3.3837	.015	-15.5125	-1.7875
	5	-18.6250*	3.3837	.000	-25.4875	-11.7625
	7	10.7750*	3.3837	.003	3.9125	17.6375
	8	45.4250*	3.3837	.000	38.6625	52.2875
	9	-23.8750*	3.3837	.000	-30.7375	-17.0125
	10	12.3750*	3.3837	.001	5.5125	19.2375
	11	19.1750*	3.3837	.000	12.3125	26.0375
	12	42.2750*	3.3837	.000	35.4125	49.1375
	7	1	-30.4500*	3.3837	.000	-37.3125
2		-25.2000*	3.3837	.000	-32.0625	-18.3375
3		-21.5250*	3.3837	.000	-28.3875	-14.6625
4		-19.4250*	3.3837	.000	-26.2875	-12.5625
5		-29.4000*	3.3837	.000	-36.2625	-22.5375
6		-10.7750*	3.3837	.003	-17.6375	-3.9125
8		34.6500*	3.3837	.000	27.7875	41.5125
9		-34.6500*	3.3837	.000	-41.5125	-27.7875
10		1.6000	3.3837	.639	-5.2625	8.4625
11		8.4000*	3.3837	.018	1.5375	15.2625
12		31.6000*	3.3837	.000	24.6375	38.3625
8		1	-65.1000*	3.3837	.000	-71.9625
	2	-69.6500*	3.3837	.000	-66.7125	-62.9875
	3	-56.1750*	3.3837	.000	-63.0375	-49.3125
	4	-54.0750*	3.3837	.000	-60.9375	-47.2125
	5	-64.0500*	3.3837	.000	-70.9125	-57.1875
	6	-45.4250*	3.3837	.000	-52.2875	-38.5625
	7	-34.6500*	3.3837	.000	-41.5125	-27.7875
	9	-69.3000*	3.3837	.000	-76.1625	-62.4375
	10	-33.0500*	3.3837	.000	-39.9125	-26.1875
	11	-26.2500*	3.3837	.000	-33.1125	-19.3875
	12	-3.1500	3.3837	.358	-10.0125	3.7125

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RDIA
LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
9	1	4.2000	3.3837	.223	-2.6625	11.0625
	2	9.4500*	3.3837	.008	2.5875	16.3125
	3	19.1250*	3.3837	.000	6.2625	19.9875
	4	15.2250*	3.3837	.000	8.3825	22.0875
	5	5.2500	3.3837	.130	-1.6125	12.1125
	6	23.8750*	3.3837	.000	17.0125	30.7375
	7	34.6500*	3.3837	.000	27.7875	41.5125
	8	69.3000*	3.3837	.000	62.4375	76.1625
	10	36.2500*	3.3837	.000	29.3875	43.1125
	11	43.0500*	3.3837	.000	36.1875	49.9125
	12	66.1500*	3.3837	.000	59.2875	73.0125
	10	1	-32.0500*	3.3837	.000	-38.9125
2		-26.8000*	3.3837	.000	-33.6625	-19.9375
3		-23.1250*	3.3837	.000	-29.9875	-16.2625
4		-21.0250*	3.3837	.000	-27.8875	-14.1625
5		-31.0000*	3.3837	.000	-37.8625	-24.1375
6		-12.3750*	3.3837	.001	-19.2375	-5.5125
7		-1.6000	3.3837	.639	-8.4625	5.2625
8		33.0500*	3.3837	.000	26.1875	39.9125
9		-36.2500*	3.3837	.000	-43.1125	-29.3875
11		6.8000	3.3837	.052	-6.2540E-02	13.6625
12		29.9000*	3.3837	.000	23.0375	36.7625
11		1	-38.8500*	3.3837	.000	-45.7125
	2	-33.6000*	3.3837	.000	-40.4625	-26.7375
	3	-29.9250*	3.3837	.000	-36.7875	-23.0625
	4	-27.8250*	3.3837	.000	-34.6875	-20.9625
	5	-37.8000*	3.3837	.000	-44.6625	-30.9375
	6	-19.1750*	3.3837	.000	-26.0375	-12.3125
	7	-8.4000*	3.3837	.018	-15.2625	-1.5375
	8	26.2500*	3.3837	.000	19.3875	33.1125
	9	-43.0500*	3.3837	.000	-49.9125	-36.1875
	10	-6.8000	3.3837	.052	-13.9625	6.254E-02
	12	23.1000*	3.3837	.000	16.2375	29.9625

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RDIA

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
12	1	-61.9500*	3.3837	.000	-68.8125	-55.0875
	2	-56.7000*	3.3837	.000	-63.5625	-49.8375
	3	-53.0250*	3.3837	.000	-59.8875	-46.1625
	4	-50.9250*	3.3837	.000	-57.7875	-44.0625
	5	-60.9000*	3.3837	.000	-67.7625	-54.0375
	6	-42.2750*	3.3837	.000	-49.1375	-35.4125
	7	-31.5000*	3.3837	.000	-38.3625	-24.6375
	8	3.1500	3.3837	.358	-3.7125	10.0125
	9	-66.1500*	3.3837	.000	-73.0125	-59.2875
	10	-29.9000*	3.3837	.000	-36.7625	-23.0375
	11	-23.1000*	3.3837	.000	-29.9625	-16.2375

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 10 Diameter tubulus seminiferus 35 hari setelah akhir perlakuan

	lama	suhu	rdia1	rdia2	rdia3	rdia4	rdia5	rjumdia	rrdia
1	1	1	189.0	178.5	168.0	179	178.5	892.50	178.50
2	1	1	178.5	210.0	168.0	179	178.5	913.50	182.70
3	1	1	178.5	178.5	189.0	189	189.0	924.00	184.80
4	1	1	157.5	178.5	168.0	189	178.5	871.50	174.30
5	1	2	178.5	178.5	189.0	168	168.0	882.00	176.40
6	1	2	178.5	168.0	189.0	189	168.0	892.50	178.50
7	1	2	168.0	168.0	189.0	189	168.0	882.00	176.40
8	1	2	178.5	178.5	168.0	168	168.0	861.00	172.20
9	1	3	178.5	168.0	168.0	179	178.5	871.50	174.30
10	1	3	178.5	178.5	178.5	158	168.0	861.00	172.20
11	1	3	178.5	168.0	168.0	168	178.5	861.00	172.20
12	1	3	168.0	157.5	168.0	168	178.5	840.00	168.00
13	1	4	168.0	168.0	178.5	158	178.5	850.50	170.10
14	1	4	168.0	178.5	178.5	168	157.5	850.50	170.10
15	1	4	178.5	168.0	157.5	158	147.0	808.50	161.70
16	1	4	147.0	168.0	168.0	158	157.5	798.00	159.60
17	1	1	189.0	178.5	168.0	168	168.0	871.50	174.30
18	2	1	168.0	168.0	178.5	179	168.0	861.00	172.20
19	2	1	189.0	189.0	189.0	179	178.5	924.00	184.80
20	2	1	189.0	178.5	168.0	168	168.0	871.50	174.30
21	2	2	157.5	168.0	157.5	147	147.0	777.00	155.40
22	2	2	168.0	168.0	157.5	158	168.0	819.00	163.80
23	2	2	157.5	147.0	157.5	168	168.0	798.00	159.60
24	2	2	147.0	168.0	157.5	168	157.5	798.00	159.60
25	2	3	147.0	126.0	147.0	147	147.0	714.00	142.80
26	2	3	157.5	147.0	147.0	168	168.0	787.50	157.50
27	2	3	126.0	147.0	168.0	158	147.0	745.50	149.10
28	2	3	126.0	147.0	157.5	147	147.0	724.50	144.90
29	2	4	105.0	105.0	94.5	94.5	105.0	504.00	100.80
30	2	4	94.5	105.0	94.5	105	94.5	493.50	98.70
31	2	4	94.5	94.5	105.0	94.5	94.5	483.00	96.60
32	2	4	105.0	94.5	105.0	94.5	94.5	493.50	98.70
33	3	1	189.0	178.5	189.0	179	178.5	913.50	182.70
34	3	1	189.0	168.0	178.5	168	178.5	882.00	176.40
35	3	1	168.0	189.0	178.5	179	168.0	882.00	176.40
36	3	1	178.5	168.0	168.0	179	189.0	882.00	176.40
37	3	2	147.0	147.0	136.5	147	157.5	735.00	147.00
38	3	2	147.0	147.0	136.5	147	147.0	724.50	144.90
39	3	2	157.5	157.5	147.0	147	157.5	766.50	153.30

	tama	suhu	rdia1	rdia2	rdia3	rdia4	rdia5	rjumdia	rrdia
40	3	2	136.5	136.5	147.0	147	157.0	724.00	144.80
41	3	3	147.0	157.5	147.0	137	147.0	735.00	147.00
42	3	3	147.0	157.5	147.0	147	157.5	756.00	151.20
43	3	3	147.0	147.0	126.0	137	105.0	661.50	132.30
44	3	3	147.0	147.0	136.5	126	105.0	661.50	132.30
45	3	4	105.0	105.0	126.0	105	126.0	567.00	113.40
46	3	4	94.5	105.0	94.5	94.5	105.0	493.50	98.70
47	3	4	105.0	94.5	94.5	94.5	105.0	493.50	98.70
48	3	4	94.5	126.0	105.0	105	94.5	525.00	105.00

Lampiran 11 Hasil uji analisis varian dua arah diameter tubulus seminiferus 35 hari setelah akhir perlakuan.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	17
	2	15
	3	16
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RRDIA

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	1123355.915	1	1123355.915	177.683	.001
	Error	18966.792	3.000	6322.251 ^a		
LAMA	Hypothesis	9099.942	2	4549.971	4.534	.063
	Error	6022.150	6.001	1003.529 ^b		
SUHU	Hypothesis	18971.264	3	6323.755	6.309	.028
	Error	6015.309	6.001	1002.318 ^c		
LAMA * SUHU	Hypothesis	6038.527	6	1006.421	98.179	.000
	Error	1001.455	36	27.818 ^d		

- a. 1.000 MS(SUHU) + 2.389E-04 MS(Error)
- b. .997 MS(LAMA * SUHU) + 2.956E-03 MS(Error)
- c. .996 MS(LAMA * SUHU) + 4.103E-03 MS(Error)
- d. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	11.868	3.956	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	3.982	1.000	LAMA
SUHU	11.871	3.957	1.000	
LAMA * SUHU	.000	3.974	1.000	
Error	.000	.000	1.000	

- a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.
- b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Lampiran 12 Hasil uji BNT diameter tubulus seminiferus 35 hari setelah akhir perlakuan

1. Grand Mean

Dependent Variable: RRDIA

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
153.829	.765	152.276	155.381

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RRDIA

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	172.961	1.285	170.355	175.568
2	146.884	1.372	143.210	148.777
3	142.531	1.319	139.857	145.205

Fairwise Comparisons

Dependent Variable: RRDIA

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	28.960 [*]	1.800	.000	23.154	30.781
	3	30.430 [*]	1.841	.000	26.696	34.164
2	1	-26.960 [*]	1.800	.000	-30.781	-23.154
	3	3.463	1.903	.077	-.397	7.322
3	1	-30.430 [*]	1.841	.000	-34.164	-26.896
	2	-3.463	1.903	.077	7.322	-.397

Based on estimated marginal means

. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent variable: RRDIA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	9099.942	2	4549.971	183.561	.000
Error	1001.455	36	27.818		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RRDIA

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	177.998	1.558	174.843	181.154
2	160.892	1.523	157.904	164.080
3	153.650	1.523	150.562	156.738
4	122.675	1.523	119.587	125.763

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRDIA

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	17.007 [*]	2.177	.000	12.591	21.422
	3	24.348 [*]	2.177	.000	19.933	28.764
	4	55.323 [*]	2.177	.000	50.908	59.739
2	1	-17.007 [*]	2.177	.000	-21.422	-12.591
	3	7.342 [*]	2.153	.002	2.975	11.709
	4	38.317 [*]	2.153	.000	33.950	42.684
3	1	-24.348 [*]	2.177	.000	-28.764	-19.933
	2	-7.342 [*]	2.153	.002	-11.709	-2.975
	4	30.975 [*]	2.153	.000	26.608	35.342
4	1	-55.323 [*]	2.177	.000	-59.739	-50.908
	2	-38.317 [*]	2.153	.000	-42.684	-33.950
	3	-30.975 [*]	2.153	.000	-35.342	-26.608

Based on estimated marginal means.

^a The mean difference is significant at the .05 level.

^b Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRDIA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	18071.264	3	6023.755	227.324	.000
Error	4001.455	98	40.918		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RRDIA

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	178.920	2.359	174.136	183.704
	2	175.875	2.637	170.527	181.223
	3	171.675	2.637	166.327	177.023
	4	165.375	2.637	160.027	170.723
2	1	177.100	3.045	170.924	183.276
	2	159.600	2.637	154.252	164.948
	3	148.575	2.637	143.227	153.923
	4	98.700	2.637	93.352	104.048
3	1	177.975	2.637	172.627	183.323
	2	147.500	2.637	142.152	152.848
	3	140.700	2.637	135.352	146.048
	4	103.950	2.637	98.602	109.298

Lampiran 13 Jumlah sel spermatogonia 1 hari setelah akhir perlakuan.

	lama	suhu	sg1	sg2	sg3	sg4	sg5	sg6	sg7	sg8	sg9	sg10	jsprg	rsprg
1	1	1	40	36	35	45	25	43	30	28	35	41	358.0	35.80
2	1	1	28	30	24	46	40	32	25	34	40	42	341.0	34.10
3	1	1	30	41	35	27	33	40	42	38	36	42	364.0	36.40
4	1	1	41	40	37	28	35	32	40	33	41	25	352.0	35.20
5	1	2	36	40	38	30	42	45	30	33	31	47	372.0	37.20
6	1	2	41	35	37	32	40	43	32	35	30	44	369.0	36.90
7	1	2	33	30	41	38	40	33	26	28	42	30	341.0	34.10
8	1	2	42	35	30	25	41	33	42	34	45	38	363.0	36.30
9	1	3	30	27	25	32	30	41	35	40	37	43	340.0	34.00
10	1	3	33	40	35	25	31	42	38	40	27	30	341.0	34.10
11	1	3	32	27	25	41	35	26	34	33	30	42	325.0	32.50
12	1	3	32	30	35	40	31	42	36	28	25	27	326.0	32.60
13	1	4	26	24	32	25	35	34	30	25	20	22	273.0	27.30
14	1	4	30	25	34	35	23	33	22	20	21	30	273.0	27.30
15	1	4	35	25	32	30	28	20	22	24	26	30	272.0	27.20
16	1	4	30	32	25	28	31	25	27	23	32	35	288.0	28.80
17	2	1	37	35	42	28	30	31	35	40	36	43	357.0	35.70
18	2	1	40	38	42	35	30	34	42	33	36	41	371.0	37.10
19	2	1	30	28	32	25	36	43	35	31	41	40	341.0	34.10
20	2	1	25	36	41	30	35	33	40	37	45	34	356.0	35.60
21	2	2	18	15	17	20	18	16	17	25	23	26	195.0	19.50
22	2	2	20	17	15	21	16	22	18	23	19	17	188.0	18.80
23	2	2	17	21	15	19	16	23	18	20	25	16	190.0	19.00
24	2	2	16	15	18	17	23	26	25	15	16	18	189.0	18.90
25	2	3	16	14	15	15	17	14	16	15	20	21	163.0	16.30
26	2	3	13	15	14	16	13	14	18	15	20	17	155.0	15.50
27	2	3	12	19	18	16	21	15	14	12	13	14	154.0	15.40
28	2	3	17	15	20	14	13	15	14	16	18	17	159.0	15.90
29	2	4	14	16	15	14	15	12	10	9	8	11	124.0	12.40
30	2	4	14	15	16	15	13	11	10	11	9	10	124.0	12.40
31	2	4	13	15	16	14	12	10	9	11	8	12	120.0	12.00
32	2	4	16	14	15	12	8	9	12	10	11	14	121.0	12.10
33	3	1	42	35	36	40	45	43	38	34	36	40	389.0	38.90
34	3	1	40	37	35	41	44	46	40	36	34	35	388.0	38.80
35	3	1	36	40	35	33	36	41	32	34	35	42	364.0	36.40
36	3	1	30	36	41	32	43	45	34	36	40	35	372.0	37.20
37	3	2	9	10	13	8	12	8	11	13	10	9	103.0	10.30
38	3	2	11	8	10	9	12	11	10	9	10	8	98.00	9.80
39	3	2	10	8	11	9	8	10	11	9	11	8	95.00	9.50

	lama	suhu	sg1	sg2	sg3	sg4	sg5	sg6	sg7	sg8	sg9	sg10	jsprg	rsprg
40	3	2	9	10	12	11	10	9	12	11	9	10	103.0	10.30
41	3	3	4	5	3	2	5	6	3	4	2	3	37.00	3.70
42	3	3	3	4	2	3	4	3	3	2	4	2	30.00	3.00
43	3	3	0	1	0	4	3	3	4	2	3	2	22.00	2.20
44	3	3	4	5	3	2	4	3	2	3	2	3	31.00	3.10
45	3	4
46	3	4
47	3	4
48	3	4

Lampiran 14 Hasil uji analisis varian dua arah jumlah sel spermatogonia
1 hari setelah akhir perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	12
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RSPRG

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	23155.088	1	23155.088	24.095	.018
	Error	2873.835	2.991	960.981 ^a		
LAMA	Hypothesis	2444.180	2	1222.090	4.672	.072
	Error	1307.754	5	261.551 ^b		
SUHU	Hypothesis	2870.812	3	956.937	3.659	.098
	Error	1307.754	5	261.551 ^b		
LAMA * SUHU	Hypothesis	1307.754	5	261.551	354.138	.000
	Error	24.372	33	.739 ^c		

- a. $1.006 MS(SUHU) - 5.815E-03 MS(LAMA * SUHU)$
- b. $MS(LAMA * SUHU)$
- c. $MS(Error)$

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	10.729	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	10.667	4.000	1.000	
LAMA * SUHU	.000	4.000	1.000	
Error	.000	.000	1.000	

- a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.
- b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Estimated Marginal Means

Lampiran 15 Hasil uji BNT jumlah sel spermatogonia 1 hari setelah akhir perlakuan

1. Grand Mean

Dependent Variable: RSPRG

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
24.175 ^a	.130	23.911	24.439

a. Based on modified population marginal mean.

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RSPRG

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	33.113	.215	32.675	33.550
2	20.669	.215	20.232	21.106
3	16.933 ^a	.248	16.429	17.438

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RSPRG

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	12.444 [*]	.304	.000	11.826	13.062
	3	16.179 ^{*,c}	.328	.000	15.511	16.847
2	1	-12.444 [*]	.304	.000	-13.062	-11.826
	3	3.735 ^{*,b}	.328	.000	3.068	4.403
3	1	-16.179 ^{*,c}	.328	.000	-16.847	-15.511
	2	-3.735 ^{*,c}	.328	.000	-4.403	-3.068

Based on estimated marginal means

^a. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. An estimate of the modified population marginal mean (J).

c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RSPRG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2104.064	2	1052.032	1424.436	.000
Error	24.372	33	.739		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RSPRG

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	36.275	.248	35.770	36.780
2	21.717	.248	21.212	22.221
3	17.368	.248	16.854	17.863
4	19.937 ^a	.304	19.319	20.556

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RSPRG

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	14.558 [*]	.351	.000	13.845	15.272
	3	18.917 [*]	.351	.000	18.203	19.630
	4	16.338 ^{*,c}	.392	.000	15.539	17.136
2	1	-14.558 [*]	.351	.000	-15.272	-13.845
	3	4.358 [*]	.351	.000	3.645	5.072
	4	1.779 ^{*,c}	.392	.000	.981	2.577
3	1	-18.917 [*]	.351	.000	-19.630	-18.203
	2	-4.358 [*]	.351	.000	-5.072	-3.645
	4	-2.579 ^{*,c}	.392	.000	-3.377	-1.781
4	1	-16.338 ^{*,c}	.392	.000	-17.136	-15.539
	2	-1.779 ^{*,c}	.392	.000	-2.577	-.981
	3	2.579 ^{*,c}	.392	.000	1.781	3.377

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. An estimate of the modified population marginal mean (J).

c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RSPRG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2530.695	3	843.565	1142.175	.000
Error	24.372	33	.739		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RSPRG

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	35.375	.430	34.501	36.249
	2	36.125	.430	35.251	36.999
	3	33.300	.430	32.426	34.174
	4	27.650	.430	26.776	28.524
2	1	35.625	.430	34.761	36.499
	2	19.050	.430	18.176	19.924
	3	15.775	.430	14.901	16.649
	4	12.225	.430	11.351	13.099
3	1	37.825	.430	36.951	38.699
	2	9.975	.430	9.101	10.849
	3	3.000	.430	2.126	3.874
	4				

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPRG
LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-.7500	.6077	.226	-1.9863	.4863
	3	2.0750*	.6077	.002	.8387	3.3113
	4	7.7250*	.6077	.000	6.4887	8.9613
	5	-.2500	.6077	.683	-1.4863	.9863
	6	16.3250*	.6077	.000	15.0887	17.5813
	7	19.6000*	.6077	.000	18.3637	20.8363
	8	23.1500*	.6077	.000	21.9137	24.3863
	9	-2.4500*	.6077	.000	-3.6863	-1.2137
	10	25.4000*	.6077	.000	24.1637	26.6363
	11	32.3750*	.6077	.000	31.1387	33.6113
2	1	.7500	.6077	.226	-.4863	1.9863
	3	2.8250*	.6077	.000	1.5887	4.0613
	4	8.4750*	.6077	.000	7.2387	9.7113
	5	.5000	.6077	.417	-.7363	1.7363
	6	17.0750*	.6077	.000	15.8387	18.3113
	7	20.3500*	.6077	.000	19.1137	21.5863
	8	23.9000*	.6077	.000	22.6637	25.1363
	9	-1.7000*	.6077	.009	-2.9363	-.4637
	10	26.1500*	.6077	.000	24.9137	27.3863
	11	33.1250*	.6077	.000	31.8887	34.3613
3	1	-2.0750*	.6077	.002	-3.3113	-.8387
	2	-2.8250*	.6077	.000	-4.0613	-1.5887
	4	5.8500*	.6077	.000	4.4137	6.8863
	5	-2.3250*	.6077	.001	-3.5813	-1.0887
	6	14.2500*	.6077	.000	13.0137	15.4863
	7	17.5250*	.6077	.000	16.2887	18.7613
	8	21.0750*	.6077	.000	19.8387	22.3113
	9	-4.5250*	.6077	.000	-5.7613	-3.2887
	10	23.3250*	.6077	.000	22.0887	24.5613
	11	30.3000*	.6077	.000	29.0637	31.5363

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPRG

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-7.7250*	.6077	.000	-8.9613	-6.4887
	2	-8.4750*	.6077	.000	-9.7113	-7.2387
	3	-5.6500*	.6077	.000	-6.8863	-4.4137
	5	-7.9750*	.6077	.000	-9.2113	-6.7387
	6	8.8000*	.6077	.000	7.3637	9.8363
	7	11.8750*	.6077	.000	10.6387	13.1113
	8	15.4250*	.6077	.000	14.1887	16.6613
	9	-10.1750*	.6077	.000	-11.4113	-8.9387
	10	17.6750*	.6077	.000	16.4387	18.9113
	11	24.6500*	.6077	.000	23.4137	25.8863
	5	1	.2500	.6077	.683	-.9863
2		-.5000	.6077	.417	-1.7363	.7363
3		2.3250*	.6077	.001	1.0887	3.5613
4		7.9750*	.6077	.000	6.7387	9.2113
6		16.5750*	.6077	.000	15.3387	17.8113
7		19.8500*	.6077	.000	18.6137	21.0863
8		23.4000*	.6077	.000	22.1637	24.6363
9		-2.2000*	.6077	.001	-3.4363	-.9637
10		25.6500*	.6077	.000	24.4137	26.8863
11		32.6250*	.6077	.000	31.3887	33.8613
6		1	-16.3250*	.6077	.000	-17.5613
	2	-17.0750*	.6077	.000	-18.3113	-15.8387
	3	-14.2500*	.6077	.000	-15.4863	-13.0137
	4	-8.6000*	.6077	.000	-9.8363	-7.3637
	5	-16.5750*	.6077	.000	-17.8113	-15.3387
	7	3.2750*	.6077	.000	2.0387	4.5113
	8	6.8250*	.6077	.000	5.5887	8.0613
	9	-18.7750*	.6077	.000	-20.0113	-17.5387
	10	9.0750*	.6077	.000	7.8387	10.3113
	11	16.0500*	.6077	.000	14.6137	17.2863

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPRG

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-19.6000*	.6077	.000	-20.8363	-18.3637
	2	-20.3500*	.6077	.000	-21.5863	-19.1137
	3	-17.5250*	.6077	.000	-18.7613	-16.2887
	4	-11.8750*	.6077	.000	-13.1113	-10.6387
	5	-19.8500*	.6077	.000	-21.0863	-18.6137
	6	-3.2750*	.6077	.000	-4.6113	-2.0387
	8	3.5500*	.6077	.000	2.3137	4.7863
	9	-22.0500*	.6077	.000	-23.2863	-20.8137
	10	6.8000*	.6077	.000	4.6637	7.0363
	11	12.7750*	.6077	.000	11.5387	14.0113
	8	1	-23.1500*	.6077	.000	-24.3863
2		-23.9000*	.6077	.000	-25.1363	-22.6637
3		-21.0750*	.6077	.000	-22.3113	-19.8387
4		-15.4250*	.6077	.000	-16.6613	-14.1887
5		-23.4000*	.6077	.000	-24.6363	-22.1637
6		-8.8250*	.6077	.000	-8.0613	-5.5887
7		-3.5500*	.6077	.000	-4.7863	-2.3137
9		-25.6000*	.6077	.000	-26.8363	-24.3637
10		2.2500*	.6077	.001	1.0137	3.4863
11		9.2250*	.6077	.000	7.9887	10.4613
9		1	2.4500*	.6077	.000	1.2137
	2	1.7000*	.6077	.009	.4637	2.9363
	3	4.5250*	.6077	.000	3.2887	5.7613
	4	10.1750*	.6077	.000	8.9387	11.4113
	5	2.2000*	.6077	.001	.9637	3.4363
	6	18.7750*	.6077	.000	17.5387	20.0113
	7	22.0500*	.6077	.000	20.8137	23.2863
	8	25.6000*	.6077	.000	24.3637	26.8363
	10	27.8500*	.6077	.000	26.6137	29.0863
	11	34.8250*	.6077	.000	33.6887	36.0613

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPRG

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-26.4000*	.6077	.000	-26.6363	-24.1637
	2	-26.1500*	.6077	.000	-27.3863	-24.9137
	3	-23.3250*	.6077	.000	-24.5613	-22.0887
	4	-17.6750*	.6077	.000	-18.9113	-16.4387
	5	-25.6500*	.6077	.000	-26.8863	-24.4137
	6	-9.0750*	.6077	.000	-10.3113	-7.8387
	7	-5.8000*	.6077	.000	-7.0363	-4.5637
	8	-2.2500*	.6077	.001	-3.4863	-1.0137
	9	-27.8500*	.6077	.000	-29.0863	-26.6137
	11	6.9750*	.6077	.000	5.7387	8.2113
	11	1	-32.3750*	.6077	.000	-33.6113
2		-33.1250*	.6077	.000	-34.3613	-31.8887
3		-30.3000*	.6077	.000	-31.5363	-29.0637
4		-24.6500*	.6077	.000	-25.8863	-23.4137
5		-32.6250*	.6077	.000	-33.8613	-31.3887
6		-16.0500*	.6077	.000	-17.2863	-14.8137
7		-12.7750*	.6077	.000	-14.0113	-11.5387
8		-9.2250*	.6077	.000	-10.4613	-7.9887
9		-34.8250*	.6077	.000	-36.0613	-33.5887
10		-6.9750*	.6077	.000	-8.2113	-5.7387

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 16 Jumlah sel spermatogonia 35 hari setelah akhir perlakuan

	lam	su	rsg1	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	jrg	rrsg
1	1	1	45	40	50	35	46	60	41	44	45	50	456.0	45.6	
2	1	1	30	35	31	50	54	46	38	40	52	45	420.0	42.0	
3	1	1	40	43	35	45	50	52	55	41	51	50	462.0	46.2	
4	1	1	45	40	50	46	40	52	55	35	45	35	443.0	44.3	
5	1	2	55	50	43	45	40	41	35	30	43	52	434.0	43.4	
6	1	2	30	40	31	35	41	35	40	45	42	41	380.0	38.0	
7	1	2	33	35	40	45	48	35	40	36	50	52	412.0	41.2	
8	1	2	45	40	43	48	55	53	60	52	45	40	479.0	47.9	
9	1	3	40	35	30	36	27	35	30	32	36	40	341.0	34.1	
10	1	3	30	41	35	25	40	45	35	34	48	30	363.0	36.3	
11	1	3	36	27	30	40	46	33	36	40	42	31	369.0	36.9	
12	1	3	32	36	40	35	41	40	35	31	42	45	377.0	37.7	
13	1	4	35	30	40	25	27	20	25	31	34	40	307.0	30.7	
14	1	4	30	35	41	26	28	23	25	35	30	40	313.0	31.3	
15	1	4	27	25	40	36	31	30	34	40	41	45	349.0	34.9	
16	1	4	36	31	42	28	28	25	20	25	30	35	298.0	29.8	
17	2	1	40	45	51	35	55	52	51	46	50	40	465.0	46.5	
18	2	1	46	43	50	55	40	56	51	45	50	40	476.0	47.6	
19	2	1	55	48	35	34	40	42	30	31	36	45	396.0	39.6	
20	2	1	44	41	50	36	54	53	51	45	50	41	465.0	46.5	
21	2	2	20	17	25	24	30	25	31	28	24	23	247.0	24.7	
22	2	2	18	23	25	33	30	18	25	26	24	23	245.0	24.5	
23	2	2	26	20	24	27	25	32	30	28	25	24	261.0	26.1	
24	2	2	18	20	23	24	28	33	32	30	20	24	252.0	25.2	
25	2	3	20	20	15	18	21	24	19	20	21	25	203.0	20.3	
26	2	3	30	26	22	24	20	25	26	21	22	20	236.0	23.6	
27	2	3	21	20	23	25	27	20	21	24	23	21	225.0	22.5	
28	2	3	25	20	25	22	24	20	21	25	23	21	226.0	22.6	
29	2	4	18	15	16	18	15	17	16	16	15	14	160.0	16.0	
30	2	4	15	17	15	16	14	16	17	18	17	16	161.0	16.1	
31	2	4	18	15	16	15	17	14	17	16	15	14	157.0	15.7	
32	2	4	16	18	15	14	18	16	17	15	14	15	158.0	15.8	
33	3	1	50	55	45	55	52	51	46	50	48	47	499.0	49.9	
34	3	1	40	43	55	50	46	43	45	50	56	51	479.0	47.9	
35	3	1	54	51	46	54	53	50	45	51	45	43	492.0	49.2	
36	3	1	52	53	51	45	50	55	50	54	45	35	490.0	49.0	
37	3	2	17	15	14	15	17	16	12	16	15	14	151.0	15.1	
38	3	2	12	16	14	17	12	16	14	15	17	11	144.0	14.4	
39	3	2	15	14	17	16	12	15	16	14	12	15	146.0	14.6	

	lam	su	rsg1	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg	rsg
40	3	2	14	15	17	12	14	17	16	14	16	15	150.0	15.0
41	3	3	2	1	3	5	2	3	6	0	0	0	22.00	2.20
42	3	3	5	2	3	2	3	6	4	3	5	3	36.00	3.60
43	3	3	5	1	3	2	2	1	3	2	2	3	24.00	2.40
44	3	3	0	1	2	0	1	3	3	2	0	0	12.00	1.20
45	3	4
46	3	4
47	3	4
48	3	4

Lampiran 17 Hasil uji analisis varian dua arah jumlah sel spermatogonia.
35 hari setelah akhir perlakuan.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	12
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RRSPG

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	35568.584	1	35568.584	20.439	.020
	Error	5208.133	2.993	1740.218 ^a		
LAMA	Hypothesis	2824.028	2	1312.013	3.651	.105
	Error	1798.733	5	359.347 ^b		
SUHU	Hypothesis	5188.702	3	1732.234	4.821	.082
	Error	1798.733	5	359.347 ^b		
LAMA *	Hypothesis	1798.733	6	359.347	88.568	.000
SUHU	Error	138.987	33	4.151 ^c		

a. $1.008 \text{ MS(SUHU)} - 5.816\text{E-}03 \text{ MS(LAMA * SUHU)}$

b. MS(LAMA * SUHU)

c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	10.729	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	10.667	4.000	1.000	
LAMA *	.000	4.000	1.000	
SUHU	.000	4.000	1.000	
Error	.000	.000	1.000	

a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.

b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Lampiran 18 Hasil uji BNT jumlah sel spermatogonia 35 hari setelah akhir perlakuan

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable: RRSPG

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
29.934 ^a	.507	29.309	30.559

a. Based on modified population marginal mean.

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RRSPG

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	38.706	.509	37.670	39.743
2	27.081	.509	26.045	28.118
3	22.042 ^a	.588	20.845	23.238

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRSPG

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	11.625 ^b	.720	.000	10.159	13.091
	3	16.665 ^b	.778	.000	15.082	18.248
2	1	-11.625 ^b	.720	.000	-13.091	-10.159
	3	5.040 ^b	.778	.000	3.457	6.623
3	1	-16.665 ^b	.778	.000	-18.248	-15.082
	2	-5.040 ^b	.778	.000	-6.623	-3.457

Based on estimated marginal means

- *. The mean difference is significant at the .05 level.
- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRSPG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2108.918	2	1054.458	254.017	.000
Error	136.987	33	4.151		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimatas

Dependent Variable: RRSPG

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	46.192	.588	44.995	47.388
2	27.508	.588	26.312	28.705
3	20.200	.588	19.003	21.397
4	23.788 ^a	.720	22.322	25.253

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRSPG

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	18.683 ^a	.832	.000	16.991	20.376
	3	25.992 ^a	.832	.000	24.299	27.684
	4	22.404 ^a	.930	.000	20.512	24.296
2	1	-18.683 ^a	.832	.000	-20.376	-16.991
	3	7.308 ^a	.832	.000	5.616	9.001
	4	3.721 ^a	.930	.000	1.829	5.613
3	1	-25.992 ^a	.832	.000	-27.684	-24.299
	2	-7.308 ^a	.832	.000	-9.001	-5.616
	4	-3.588 ^a	.930	.001	-5.480	-1.695
4	1	-22.404 ^a	.930	.000	-24.296	-20.512
	2	-3.721 ^a	.930	.000	-5.613	-1.829
	3	3.588 ^a	.930	.001	1.695	5.480

Based on estimated marginal means

^a. The mean difference is significant at the .05 level.

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRSPG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	4681.592	3	1560.531	375.929	.000
Error	136.987	33	4.151		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RRSPG

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	44.525	1.019	42.452	46.598
	2	42.625	1.019	40.552	44.698
	3	36.000	1.019	33.927	38.073
	4	31.875	1.019	29.602	33.748
2	1	45.050	1.019	42.977	47.123
	2	25.125	1.019	23.052	27.198
	3	22.250	1.019	20.177	24.323
	4	15.900	1.019	13.827	17.973
3	1	49.000	1.019	46.927	51.073
	2	14.775	1.019	12.702	16.848
	3	2.350	1.019	.277	4.423
	4

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSg

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.9000	1.4407	.196	-1.0311	4.8311
	3	8.5250*	1.4407	.000	5.5939	11.4561
	4	12.8500*	1.4407	.000	9.9189	15.7811
	5	-.5250	1.4407	.718	-3.4561	2.4061
	6	19.4000*	1.4407	.000	16.4689	22.3311
	7	22.2750*	1.4407	.000	19.3439	25.2061
	8	28.6250*	1.4407	.000	25.6939	31.5561
	9	-4.4750*	1.4407	.004	-7.4061	-1.5439
	10	29.7500*	1.4407	.000	26.8189	32.6811
	11	42.1750*	1.4407	.000	39.2439	45.1061
2	1	-1.9000	1.4407	.196	-4.8311	1.0311
	3	6.6250*	1.4407	.000	3.6939	9.5561
	4	10.9500*	1.4407	.000	8.0189	13.8811
	5	-2.4250	1.4407	.102	-5.3561	.5061
	6	17.5000*	1.4407	.000	14.5689	20.4311
	7	20.3750*	1.4407	.000	17.4439	23.3061
	8	26.7250*	1.4407	.000	23.7939	29.6561
	9	-6.3750*	1.4407	.000	-9.3061	-3.4439
	10	27.8500*	1.4407	.000	24.9189	30.7811
	11	40.2750*	1.4407	.000	37.3439	43.2061
3	1	-8.5250*	1.4407	.000	-11.4561	-5.5939
	2	-6.6250*	1.4407	.000	-9.5561	-3.6939
	4	4.3250*	1.4407	.005	1.3939	7.2561
	5	-9.0500*	1.4407	.000	-11.9811	-6.1189
	6	10.8750*	1.4407	.000	7.9439	13.8061
	7	13.7500*	1.4407	.000	10.8189	16.6811
	8	20.1000*	1.4407	.000	17.1689	23.0311
	9	-13.0000*	1.4407	.000	-15.9311	-10.0689
	10	21.2250*	1.4407	.000	18.2839	24.1561
	11	33.6500*	1.4407	.000	30.7189	36.5811

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSg

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-12.8500*	1.4407	.000	-15.7811	-9.9189
	2	-10.9500*	1.4407	.000	-13.8811	-8.0189
	3	-4.3250*	1.4407	.005	-7.2561	-1.3939
	5	-13.3750*	1.4407	.000	-16.3061	-10.4439
	6	6.5500*	1.4407	.000	3.6189	9.4811
	7	9.4250*	1.4407	.000	6.4939	12.3561
	8	15.7750*	1.4407	.000	12.8439	18.7061
	9	-17.3250*	1.4407	.000	-20.2561	-14.3939
	10	16.9000*	1.4407	.000	13.9689	19.8311
	11	29.3250*	1.4407	.000	26.3939	32.2561
	5	1	.5250	1.4407	.718	-2.4061
2		2.4250	1.4407	.102	-.5061	5.3561
3		9.0500*	1.4407	.000	6.1189	11.9811
4		13.3750*	1.4407	.000	10.4439	16.3061
6		19.9250*	1.4407	.000	16.9939	22.8561
7		22.8000*	1.4407	.000	19.8689	25.7311
8		29.1500*	1.4407	.000	26.2189	32.0811
9		-3.9500*	1.4407	.010	-6.8811	-1.0189
10		30.2750*	1.4407	.000	27.3439	33.2061
11		42.7000*	1.4407	.000	39.7689	45.6311
6		1	-19.4000*	1.4407	.000	-22.3311
	2	-17.5000*	1.4407	.000	-20.4311	-14.5689
	3	-10.9750*	1.4407	.000	-13.8061	-7.9439
	4	-6.5500*	1.4407	.000	-9.4811	-3.6189
	5	-19.9250*	1.4407	.000	-22.8561	-16.9939
	7	2.8750	1.4407	.054	-5.6092E-02	5.8061
	8	9.2250*	1.4407	.000	6.2939	12.1561
	9	-23.8750*	1.4407	.000	-26.8061	-20.9439
	10	10.3500*	1.4407	.000	7.4189	13.2811
	11	22.7750*	1.4407	.000	19.8439	25.7061

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSQ

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-22.2750*	1.4407	.000	-25.2061	-19.3439
	2	-20.3750*	1.4407	.000	-23.3061	-17.4439
	3	-13.7500*	1.4407	.000	-16.6811	-10.8189
	4	-9.4250*	1.4407	.000	-12.3561	-6.4939
	5	-22.8000*	1.4407	.000	-25.7311	-19.8689
	6	-2.8750	1.4407	.054	-5.8061	6.609E-02
	8	6.3500*	1.4407	.000	3.4189	9.2811
	9	-26.7500*	1.4407	.000	-29.6811	-23.8189
	10	7.4750*	1.4407	.000	4.5439	10.4061
	11	19.9000*	1.4407	.000	16.9689	22.8311
	8	1	-28.6250*	1.4407	.000	-31.5581
2		-26.7250*	1.4407	.000	-29.6561	-23.7939
3		-20.1000*	1.4407	.000	-23.0311	-17.1689
4		-15.7750*	1.4407	.000	-18.7061	-12.8439
5		-29.1500*	1.4407	.000	-32.0811	-26.2189
6		-9.2250*	1.4407	.000	-12.1561	-6.2939
7		-6.3500*	1.4407	.000	-9.2811	-3.4189
9		-33.1000*	1.4407	.000	-36.0311	-30.1689
10		1.1250	1.4407	.440	-1.8061	4.0561
11		13.5500*	1.4407	.000	10.6189	16.4811
9		1	4.4750*	1.4407	.004	1.5439
	2	6.3750*	1.4407	.000	3.4439	9.3061
	3	13.0000*	1.4407	.000	10.0689	15.9311
	4	17.3250*	1.4407	.000	14.3939	20.2561
	5	3.9500*	1.4407	.010	1.0189	6.8811
	6	23.8750*	1.4407	.000	20.9439	26.8061
	7	26.7500*	1.4407	.000	23.8189	29.6811
	8	33.1000*	1.4407	.000	30.1689	36.0311
	10	34.2250*	1.4407	.000	31.2939	37.1561
	11	46.6500*	1.4407	.000	43.7189	49.5811

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RREG

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-29.7500*	1.4407	.000	-32.6811	-26.8189
	2	-27.8500*	1.4407	.000	-30.7811	-24.9189
	3	-21.2250*	1.4407	.000	-24.1561	-18.2939
	4	-16.9000*	1.4407	.000	-19.8311	-13.9689
	5	-30.2750*	1.4407	.000	-33.2061	-27.3439
	6	-10.3500*	1.4407	.000	-13.2811	-7.4189
	7	-7.4750*	1.4407	.000	-10.4061	-4.5439
	8	-1.1250	1.4407	.440	-4.0561	1.8061
	9	-34.2250*	1.4407	.000	-37.1561	-31.2939
	11	12.4250*	1.4407	.000	9.4939	15.3561
	11	1	-42.1750*	1.4407	.000	-45.1061
2		-40.2750*	1.4407	.000	-43.2061	-37.3439
3		-33.6500*	1.4407	.000	-36.5811	-30.7189
4		-29.3250*	1.4407	.000	-32.2561	-26.3939
5		-42.7000*	1.4407	.000	-45.6311	-39.7689
6		-22.7750*	1.4407	.000	-25.7061	-19.8439
7		-19.8000*	1.4407	.000	-22.8311	-16.9689
9		-13.5500*	1.4407	.000	-16.4811	-10.6189
9		-46.6500*	1.4407	.000	-49.5811	-43.7189
10		-12.4250*	1.4407	.000	-15.3561	-9.4939

*. The mean difference is significant at the .05 level.

	lam	suh	sps1	sps	sps3	sps4	sps5	sps	sps7	sps	sps9	sps1	jps	rps
40	3	2	4	5	6	6	5	4	6	5	4	5	50	5
41	3	3	1	2	1	1	3	2	1	2	1	2	16	2
42	3	3	1	2	1	0	3	2	1	1	2	1	14	1
43	3	3	2	3	1	2	2	1	2	2	1	0	16	2
44	3	3	3	3	1	1	3	2	1	2	1	2	19	2
45	3	4
46	3	4
47	3	4
48	3	4

Lampiran 20 Hasil uji analisis varian dua arah jumlah sel spermatoosit primer
1 hari setelah akhir perlakuan.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	12
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RSPS

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	4792.724	1	4792.724	15.303	.030
	Error	938.258	2.996	313.198 ^a		
LAMA	Hypothesis	405.193	2	202.596	5.287	.058
	Error	191.602	5	38.320 ^b		
SUHU	Hypothesis	934.826	3	311.609	8.132	.023
	Error	191.602	5	38.320 ^b		
LAMA *	Hypothesis	191.602	5	38.320	139.270	.000
SUHU	Error	9.080	33	.275 ^c		

a. 1.006 MS(SUHU) - 5.815E-03 MS(LAMA * SUHU)

b. MS(LAMA * SUHU)

c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component				Quadratic Term
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)		
Intercept	10.729	4.000	1.000		Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000		LAMA
SUHU	10.667	4.000	1.000		
LAMA *	.000	4.000	1.000		
SUHU	.000	.000	1.000		
Error	.000	.000	1.000		

a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.

b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable: RSPS

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
11.014 ^a	.079	10.853	11.175

a. Based on modified population marginal mean.

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RSPS

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	14.558	.131	14.289	14.823
2	9.500	.131	9.233	9.767
3	8.308 ^a	.151	8.000	8.616

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RSPS

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.056 ^a	.185	.000	4.679	5.434
	3	6.248 ^{a,b}	.200	.000	5.840	6.655
2	1	-5.056 ^a	.185	.000	-5.434	-4.679
	3	1.192 ^{a,b}	.200	.000	.784	1.599
3	1	-6.248 ^{a,c}	.200	.000	-6.655	-5.840
	2	-1.192 ^{a,c}	.200	.000	-1.599	-.784

Based on estimated marginal means

- ^a. The mean difference is significant at the .05 level.
- ^a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- ^b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- ^c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Lampiran 21 Hasil uji BNT jumlah sel spermatis primer 1 hari setelah akhir perlakuan

Univariate Tests

Dependent Variable: RSPS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	325.283	2	162.642	591.098	.000
Error	9.080	33	.275		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RSPS

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	18.075	.151	17.767	18.383
2	9.583	.151	9.275	9.891
3	7.283	.161	6.976	7.591
4	8.163 ^a	.185	7.785	8.540

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RSPS

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	8.492 [*]	.214	.000	8.056	8.927
	3	10.792 [*]	.214	.000	10.356	11.227
	4	9.912 [*]	.239	.000	9.425	10.400
2	1	-8.492 [*]	.214	.000	-8.927	-8.058
	3	2.300 [*]	.214	.000	1.864	2.736
	4	1.421 [*]	.239	.000	.934	1.908
3	1	-10.792 [*]	.214	.000	-11.227	-10.356
	2	-2.300 [*]	.214	.000	-2.736	-1.864
	4	-.879 [*]	.239	.001	-1.366	-.392
4	1	-9.912 [*]	.239	.000	-10.400	-9.425
	2	-1.421 [*]	.239	.000	-1.908	-.934
	3	.879 [*]	.239	.001	.392	1.366

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (i).

Univariate Tests

Dependent Variable: RSPS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	854.917	3	284.972	1035.693	.000
Error	9.080	33	.275		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RSPS

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	17.925	.262	17.391	18.459
	2	14.650	.262	14.116	15.184
	3	13.850	.262	13.316	14.384
	4	11.800	.262	11.266	12.334
2	1	18.025	.262	17.491	18.559
	2	9.075	.262	8.541	9.609
	3	6.375	.262	5.841	6.909
	4	4.525	.262	3.991	5.059
3	1	18.275	.262	17.741	18.809
	2	5.025	.262	4.491	5.559
	3	1.625	.262	1.091	2.159
	4				

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPS

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	3.28*	.37	.000	2.52	4.03
	3	4.08*	.37	.000	3.32	4.83
	4	6.13*	.37	.000	6.37	6.88
	5	-1.00E-01	.37	.789	-.85	.65
	6	8.85*	.37	.000	8.10	9.60
	7	11.55*	.37	.000	10.80	12.30
	8	13.40*	.37	.000	12.65	14.15
	9	-.35	.37	.352	-1.10	.40
	10	12.90*	.37	.000	12.15	13.65
	11	16.30*	.37	.000	15.55	17.05
2	1	-3.28*	.37	.000	-4.03	-2.52
	3	.80*	.37	.038	4.54E-02	1.55
	4	2.85*	.37	.000	2.10	3.60
	5	-3.37*	.37	.000	-4.13	-2.62
	6	5.57*	.37	.000	4.82	6.33
	7	8.28*	.37	.000	7.52	9.03
	8	10.13*	.37	.000	9.37	10.88
	9	-3.62*	.37	.000	-4.38	-2.87
	10	9.63*	.37	.000	8.87	10.38
	11	13.03*	.37	.000	12.27	13.78
3	1	-4.08*	.37	.000	-4.83	-3.32
	2	-.80*	.37	.038	-1.55	-4.54E-02
	4	2.05*	.37	.000	1.30	2.80
	5	-4.17*	.37	.000	-4.83	-3.42
	6	4.77*	.37	.000	4.02	5.53
	7	7.48*	.37	.000	6.72	8.23
	8	9.32*	.37	.000	8.57	10.08
	9	-4.42*	.37	.000	-5.18	-3.67
	10	8.82*	.37	.000	8.07	9.58
	11	12.23*	.37	.000	11.47	12.98

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPS

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-6.13*	.37	.000	-6.88	-5.37
	2	-2.85*	.37	.000	-3.60	-2.10
	3	-2.05*	.37	.000	-2.80	-1.30
	5	-6.22*	.37	.000	-6.98	-5.47
	6	2.72*	.37	.000	1.97	3.48
	7	5.43*	.37	.000	4.67	6.18
	8	7.28*	.37	.000	6.52	8.03
	9	-6.47*	.37	.000	-7.23	-5.72
	10	6.78*	.37	.000	6.02	7.53
	11	10.18*	.37	.000	9.42	10.93
	5	1	1.00E-01	.37	.789	-.85
2		3.37*	.37	.000	2.62	4.13
3		4.17*	.37	.000	3.42	4.93
4		6.22*	.37	.000	5.47	6.98
6		8.95*	.37	.000	8.20	9.70
7		11.65*	.37	.000	10.90	12.40
8		13.50*	.37	.000	12.75	14.25
9		-.25	.37	.505	-1.00	.50
10		13.00*	.37	.000	12.25	13.75
11		16.40*	.37	.000	15.65	17.15
6		1	-8.85*	.37	.000	-9.60
	2	-5.57*	.37	.000	-6.33	-4.82
	3	-4.77*	.37	.000	-5.53	-4.02
	4	-2.72*	.37	.000	-3.48	-1.97
	5	-8.95*	.37	.000	-9.70	-8.20
	7	2.70*	.37	.000	1.95	3.45
	8	4.55*	.37	.000	3.80	5.30
	9	-9.20*	.37	.000	-9.95	-8.45
	10	4.05*	.37	.000	3.30	4.80
	11	7.45*	.37	.000	6.70	8.20

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPS

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-11.55*	.37	.000	-12.30	-10.80
	2	-8.28*	.37	.000	-9.03	-7.52
	3	-7.48*	.37	.000	-8.23	-6.72
	4	-5.43*	.37	.000	-6.18	-4.67
	5	-11.65*	.37	.000	-12.40	-10.90
	6	-2.70*	.37	.000	-3.45	-1.95
	8	1.85*	.37	.000	1.10	2.60
	9	-11.90*	.37	.000	-12.65	-11.15
	10	1.35*	.37	.001	.60	2.10
	11	4.75*	.37	.000	4.00	5.50
	8	1	-13.40*	.37	.000	-14.15
2		-10.13*	.37	.000	-10.88	-9.37
3		-9.32*	.37	.000	-10.08	-8.57
4		-7.28*	.37	.000	-8.03	-6.52
5		-13.50*	.37	.000	-14.25	-12.75
6		-4.55*	.37	.000	-5.30	-3.80
7		-1.85*	.37	.000	-2.60	-1.10
9		-13.75*	.37	.000	-14.50	-13.00
10		-.50	.37	.187	-1.25	.25
11		2.90*	.37	.000	2.15	3.65
9		1	.35	.37	.352	-.40
	2	3.62*	.37	.000	2.87	4.38
	3	4.42*	.37	.000	3.67	5.18
	4	6.47*	.37	.000	5.72	7.23
	5	.25	.37	.506	-.50	1.00
	6	9.20*	.37	.000	8.45	9.95
	7	11.90*	.37	.000	11.15	12.65
	8	13.75*	.37	.000	13.00	14.50
	10	13.25*	.37	.000	12.50	14.00
	11	16.65*	.37	.000	15.90	17.40

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSPS

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-12.90*	.37	.000	-13.66	-12.16
	2	-9.63*	.37	.000	-10.38	-8.87
	3	-8.82*	.37	.000	-9.58	-8.07
	4	-6.78*	.37	.000	-7.53	-6.02
	5	-13.00*	.37	.000	-13.75	-12.25
	6	-4.05*	.37	.000	-4.80	-3.30
	7	-1.35 ¹	.37	.001	-2.10	-.60
	8	.50	.37	.187	-.25	1.25
	9	-13.25*	.37	.000	-14.00	-12.50
	11	3.40*	.37	.000	2.65	4.15
	11	1	-16.30*	.37	.000	-17.05
2		-13.03*	.37	.000	-13.78	-12.27
3		-12.23*	.37	.000	-12.98	-11.47
4		-10.18*	.37	.000	-10.93	-9.42
5		-16.40*	.37	.000	-17.15	-15.65
6		-7.45*	.37	.000	-8.20	-6.70
7		-4.75*	.37	.000	-5.50	-4.00
8		-2.90*	.37	.000	-3.65	-2.15
9		-16.65*	.37	.000	-17.40	-15.90
10		-3.40*	.37	.000	-4.15	-2.65

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 22 Jumlah sel spermatisit 35 hari setelah akhir perlakuan

	lam	suh	rsps1	rsps2	rsps3	rsps4	rsps5	rsps6	rsps7	rsps8	rsps9	rsps1	jrps	rrps
1	1	1	23	22	18	15	17	25	20	22	23	19	204.00	20.40
2	1	1	14	15	14	23	27	23	20	17	25	23	201.00	20.10
3	1	1	17	18	16	19	23	24	25	17	20	19	198.00	19.80
4	1	1	20	19	23	21	18	24	25	15	20	16	201.00	20.10
5	1	2	23	22	20	16	17	20	18	15	19	23	193.00	19.30
6	1	2	15	20	16	17	21	18	21	22	21	19	190.00	19.00
7	1	2	14	15	17	18	19	15	17	16	20	23	174.00	17.40
8	1	2	22	21	23	22	24	15	23	21	18	16	205.00	20.50
9	1	3	18	17	15	16	18	17	18	15	18	17	169.00	16.90
10	1	3	15	17	16	15	20	21	18	17	22	14	175.00	17.50
11	1	3	18	17	14	15	19	20	17	18	19	15	172.00	17.20
12	1	3	14	16	17	16	17	18	15	14	19	20	166.00	16.60
13	1	4	17	15	18	14	15	10	14	15	16	18	152.00	15.20
14	1	4	15	16	18	14	15	13	14	16	15	17	153.00	15.30
15	1	4	13	12	14	16	14	15	16	17	18	21	156.00	15.60
16	1	4	17	16	18	15	16	14	10	12	15	17	150.00	15.00
17	2	1	19	20	21	18	24	23	20	22	23	21	211.00	21.10
18	2	1	20	19	22	25	18	23	21	18	19	16	203.00	20.30
19	2	1	22	20	17	16	18	17	15	16	17	19	177.00	17.70
20	2	1	18	16	20	16	24	23	20	18	19	17	191.00	19.10
21	2	2	11	10	12	12	14	14	15	13	12	11	124.00	12.40
22	2	2	10	11	12	14	13	13	12	11	13	12	121.00	12.10
23	2	2	14	12	13	13	12	15	14	13	14	12	132.00	13.20
24	2	2	9	11	12	14	13	12	15	10	11	11	118.00	11.80
25	2	3	11	10	9	9	10	12	10	11	12	13	107.00	10.70
26	2	3	14	13	11	10	12	13	12	9	10	9	113.00	11.30
27	2	3	11	10	12	11	13	9	10	11	12	10	109.00	10.90
28	2	3	11	10	12	10	11	9	10	12	11	10	106.00	10.60
29	2	4	9	5	7	8	4	8	7	6	5	4	63.00	6.30
30	2	4	7	9	7	8	8	8	9	8	7	6	75.00	7.50
31	2	4	9	6	7	6	8	5	7	6	5	5	64.00	6.40
32	2	4	7	9	6	5	8	5	7	5	5	5	64.00	6.40
33	3	1	20	19	21	25	24	21	20	19	23	18	210.00	21.00
34	3	1	17	18	23	20	21	19	20	22	22	20	202.00	20.20
35	3	1	22	20	19	23	25	22	21	22	20	18	213.00	21.30
36	3	1	21	21	20	19	20	23	20	21	18	16	199.00	19.90
37	3	2	11	10	9	10	11	11	8	10	10	9	99.00	9.90
38	3	2	8	10	9	11	8	10	9	9	11	15	100.00	10.00
39	3	2	10	9	11	10	8	10	10	9	8	9	94.00	9.40

	lam	suh	rsps1	rsps2	rsps3	rsps4	rsps5	rsps6	rsps7	rsps8	rsps9	rsps1	jrps	rrps
40	3	2	11	10	11	9	8	12	8	7	8	7	91.00	9.10
41	3	3	0	1	0	2	1	1	2	1	2	0	10.00	1.00
42	3	3	3	1	2	2	1	3	3	2	3	2	22.00	2.20
43	3	3	2	1	2	0	0	0	2	1	0	2	10.00	1.00
44	3	3	1	2	0	1	0	1	0	3	0	1	9.00	.90
45	3	4
46	3	4
47	3	4
48	3	4

Lampiran 23 Hasil uji analisis varian dua arah jumlah sel spermatis primer 35 hari setelah akhir perlakuan.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	12
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RRSPS

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	7643.402	1	7643.402	27.211	.014
	Error	840.483	2.992	280.890 ^a		
LAMA	Hypothesis	531.351	2	265.675	4.232	.084
	Error	313.904	5	62.781 ^b		
SUHU	Hypothesis	838.887	3	279.629	4.454	.071
	Error	313.904	5	62.781 ^b		
LAMA *	Hypothesis	313.904	5	62.781	117.514	.000
SUHU	Error	17.630	33	.534 ^c		

a. $1.006 \text{ MS}(\text{SUHU}) - 5.815\text{E-}03 \text{ MS}(\text{LAMA} * \text{SUHU})$

b. $\text{MS}(\text{LAMA} * \text{SUHU})$

c. $\text{MS}(\text{Error})$

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component				Quadratic Term
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)		
Intercept	10.729	4.000	1.000		Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000		LAMA
SUHU	10.667	4.000	1.000		
LAMA *	.000	4.000	1.000		
SUHU	.000	.000	1.000		
Error	.000	.000	1.000		

a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.

b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Lampiran 24 Hasil uji BNT jumlah sel spermatis primer 35 hari setelah akhir perlakuan

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable: RRSPS

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
13.855 ^a	.110	13.630	14.079

a. Based on modified population marginal mean.

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RRSPS

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	17.889	.183	17.497	18.241
2	12.363	.183	11.991	12.734
3	10.492 ^a	.211	10.062	10.921

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRSPS

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.506 [*]	.258	.000	4.980	6.032
	3	7.377 [*]	.279	.000	6.809	7.945
2	1	-5.506 [*]	.258	.000	-6.032	-4.980
	3	1.871 [*]	.279	.000	1.303	2.439
3	1	-7.377 [*]	.279	.000	-7.945	-6.809
	2	-1.871 [*]	.279	.000	-2.439	-1.303

Based on estimated marginal means

- *. The mean difference is significant at the .05 level.
- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRSPS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	429.148	2	214.574	401.842	.000
Error	17.630	33	.534		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RRSPS

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	20.083	.211	19.654	20.513
2	13.675	.211	13.246	14.104
3	9.733	.211	9.304	10.163
4	10.962 ^a	.258	10.437	11.488

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRSPS

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	6.408 [*]	.298	.000	5.801	7.015
	3	10.350 [*]	.298	.000	9.743	10.957
	4	9.121 [*]	.334	.000	8.442	9.800
2	1	-6.408 [*]	.298	.000	-7.015	-5.801
	3	3.942 [*]	.298	.000	3.335	4.549
	4	2.713 [*]	.334	.000	2.034	3.391
3	1	-10.350 [*]	.298	.000	-10.957	-9.743
	2	-3.942 [*]	.298	.000	-4.549	-3.335
	4	-1.229 [*]	.334	.001	-1.908	-.550
4	1	9.121 [*]	.334	.000	8.442	9.800
	2	2.713 [*]	.334	.000	2.034	3.391
	3	1.229 [*]	.334	.001	.550	1.908

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. An estimate of the modified population marginal mean (J).

c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRSPS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	736.885	3	245.562	459.644	.000
Error	17.630	33	.534		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RRSPS

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	20.100	.365	19.356	20.844
	2	19.050	.365	18.306	19.794
	3	17.050	.365	16.306	17.794
	4	15.275	.365	14.531	16.019
2	1	19.550	.365	18.806	20.294
	2	12.375	.365	11.631	13.119
	3	10.875	.365	10.131	11.619
	4	6.650	.365	5.906	7.394
3	1	20.600	.365	19.856	21.344
	2	9.600	.365	8.856	10.344
	3	1.275	.365	.531	2.019
	4				

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSFS

LSD

(I) INTE	(J) INTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.0500	.5168	.050	-1.5142E-03	2.1015
	3	3.0500*	.5168	.000	1.9985	4.1015
	4	4.8250*	.5168	.000	3.7735	5.8765
	5	.5500	.5168	.295	-.5015	1.6015
	6	7.7250*	.5168	.000	6.6735	8.7765
	7	9.2250*	.5168	.000	8.1735	10.2765
	8	13.4500*	.5168	.000	12.3985	14.5015
	9	-.5000	.5168	.340	-1.5515	.5515
	10	10.5000*	.5168	.000	9.4485	11.5515
	11	18.8250*	.5168	.000	17.7735	19.8765
2	1	-1.0500	.5168	.050	-2.1015	1.514E-03
	3	2.0000*	.5168	.000	.9485	3.0515
	4	3.7750*	.5168	.000	2.7235	4.8265
	5	-.5000	.5168	.340	-1.5515	.5515
	6	6.6750*	.5168	.000	5.6235	7.7265
	7	8.1750*	.5168	.000	7.1235	9.2265
	8	12.4000*	.5168	.000	11.3485	13.4515
	9	-1.5500*	.5168	.005	-2.6015	-.4985
	10	9.4500*	.5168	.000	8.3985	10.5015
	11	17.7750*	.5168	.000	16.7235	18.8265
3	1	-3.0500*	.5168	.000	-4.1015	-1.9985
	2	-2.0000*	.5168	.000	-3.0515	-.9485
	4	1.7750*	.5168	.002	.7235	2.8265
	5	-2.5000*	.5168	.000	-3.5515	-1.4485
	6	4.6750*	.5168	.000	3.6235	5.7265
	7	6.1750*	.5168	.000	5.1235	7.2265
	8	10.4000*	.5168	.000	9.3485	11.4515
	9	-3.5500*	.5168	.000	-4.6015	-2.4985
	10	7.4500*	.5168	.000	6.3985	8.5015
	11	15.7750*	.5168	.000	14.7235	16.8265

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSPS

LSD

(I) INTE	(J) INTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-4.8250*	.5168	.000	-5.8765	-3.7735
	2	-3.7750*	.5168	.000	-4.8265	-2.7235
	3	-1.7750*	.5168	.002	-2.8265	-.7235
	5	-4.2750*	.5168	.000	-5.3265	-3.2235
	6	2.9000*	.5168	.000	1.8485	3.9515
	7	4.4000*	.5168	.000	3.3485	5.4515
	8	8.6250*	.5168	.000	7.5735	9.6765
	9	-5.3250*	.5168	.000	-6.3765	-4.2735
	10	5.6750*	.5168	.000	4.6235	6.7265
	11	14.0000*	.5168	.000	12.9485	15.0515
	5	1	-.5500	.5168	.295	-1.6015
2		.5000	.5168	.340	-.5515	1.5515
3		2.5000*	.5168	.000	1.4485	3.5515
4		4.2750*	.5168	.000	3.2235	5.3265
6		7.1750*	.5168	.000	6.1235	8.2265
7		8.6750*	.5168	.000	7.6235	9.7265
8		12.9000*	.5168	.000	11.8485	13.9515
9		-1.0500	.5168	.050	-2.1015	1.514E-03
10		9.9500*	.5168	.000	8.8985	11.0015
11		18.2750*	.5168	.000	17.2235	19.3265
6		1	-7.7250*	.5168	.000	-8.7765
	2	-6.6750*	.5168	.000	-7.7265	-5.6235
	3	-4.6750*	.5168	.000	-5.7265	-3.6235
	4	-2.9000*	.5168	.000	-3.9515	-1.8485
	5	-7.1750*	.5168	.000	-8.2265	-6.1235
	7	1.5000*	.5168	.007	.4485	2.5515
	8	5.7250*	.5168	.000	4.6735	6.7765
	9	-8.2250*	.5168	.000	-9.2765	-7.1735
	10	2.7750*	.5168	.000	1.7235	3.8265
	11	11.1000*	.5168	.000	10.0485	12.1515

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSPS

LSD

(I) INTE	(J) INTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-9.2250*	.5168	.000	-10.2765	-8.1735
	2	-8.1750*	.5168	.000	-9.2265	-7.1235
	3	-6.1750*	.5168	.000	-7.2265	-5.1235
	4	-4.4000*	.5168	.000	-5.4515	-3.3485
	5	-8.6750*	.5168	.000	-9.7265	-7.6235
	6	-1.5000*	.5168	.007	-2.5515	-.4485
	8	4.2250*	.5168	.000	3.1735	5.2765
	9	-9.7250*	.5168	.000	-10.7765	-8.6735
	10	1.2750*	.5168	.019	.2235	2.3265
	11	9.6000*	.5168	.000	8.5485	10.6515
	8	1	-13.4500*	.5168	.000	-14.5015
2		-12.4000*	.5168	.000	-13.4515	-11.3485
3		-10.4000*	.5168	.000	-11.4515	-9.3485
4		-8.6250*	.5168	.000	-9.6765	-7.5735
5		-12.9000*	.5168	.000	-13.9515	-11.8485
6		-5.7250*	.5168	.000	-6.7765	-4.6735
7		-4.2250*	.5168	.000	-5.2765	-3.1735
9		-13.9500*	.5168	.000	-15.0015	-12.8985
10		-2.9500*	.5168	.000	-4.0015	-1.8985
11		5.3750*	.5168	.000	4.3235	6.4265
9		1	.5000	.5168	.340	-.5515
	2	1.6600*	.5168	.006	.4985	2.6015
	3	3.6500*	.5168	.000	2.4985	4.6015
	4	5.3250*	.5168	.000	4.2735	6.3765
	5	1.0500	.5168	.050	-1.5142E-03	2.1015
	6	8.2250*	.5168	.000	7.1735	9.2765
	7	9.7250*	.5168	.000	8.6735	10.7765
	8	13.9500*	.5168	.000	12.8985	15.0015
	10	11.0000*	.5168	.000	9.9485	12.0515
	11	19.3260*	.5168	.000	18.2735	20.3765

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RRSPS

LSD

(I) INTE	(J) INTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-10.5000*	.5168	.000	-11.5515	-9.4485
	2	-9.4500*	.5168	.000	-10.5015	-8.3985
	3	-7.4500*	.5168	.000	-8.5015	-6.3985
	4	-5.6750*	.5168	.000	-6.7265	-4.6235
	5	-9.9500*	.5168	.000	-11.0015	-8.8985
	6	-2.7750*	.5168	.000	-3.8265	-1.7235
	7	-1.2750*	.5168	.019	-2.3265	-.2235
	8	2.9500*	.5168	.000	1.8985	4.0015
	9	-11.0000*	.5168	.000	-12.0515	-9.9485
	11	8.3250*	.5168	.000	7.2735	9.3765
11	1	-18.8250*	.5168	.000	-19.8765	-17.7735
	2	-17.7750*	.5168	.000	-18.8265	-16.7235
	3	-15.7750*	.5168	.000	-16.8265	-14.7235
	4	-14.0000*	.5168	.000	-15.0515	-12.9485
	5	-18.2750*	.5168	.000	-19.3265	-17.2235
	6	-11.1000*	.5168	.000	-12.1515	-10.0485
	7	-9.6000*	.5168	.000	-10.6515	-8.5485
	8	-5.3750*	.5168	.000	-6.4265	-4.3235
	9	-19.3250*	.5168	.000	-20.3765	-18.2735
	10	-8.3250*	.5168	.000	-9.3765	-7.2735

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 25 Jumlah sel spermatid 1 hari setelah akhir perlakuan

	lam	su	sp1	sp2	sp3	sp4	sp5	sp6	sp7	sp8	sp9	sp1	jsp	rsp
1	1	1	65	63	60	75	62	70	60	63	55	72	645.00	64.50
2	1	1	51	65	50	60	67	66	60	63	65	68	615.00	61.50
3	1	1	60	66	57	50	55	63	60	58	56	60	584.00	58.40
4	1	1	66	65	43	50	55	52	58	54	57	53	553.00	55.30
5	1	2	53	55	49	45	55	60	50	52	56	60	535.00	53.50
6	1	2	56	51	56	54	57	60	52	56	55	58	555.00	55.50
7	1	2	45	40	55	53	58	50	35	41	56	38	469.00	46.90
8	1	2	55	45	40	40	50	46	53	45	55	40	469.00	46.90
9	1	3	40	43	36	45	45	61	55	62	60	65	512.00	51.20
10	1	3	44	60	54	36	40	45	65	62	41	40	487.00	48.70
11	1	3	45	43	35	56	60	46	53	51	47	56	491.00	49.10
12	1	3	46	36	55	56	50	55	53	50	30	42	473.00	47.30
13	1	4	30	46	35	34	50	45	35	30	21	25	351.00	35.10
14	1	4	32	35	50	45	22	25	33	25	26	40	333.00	33.30
15	1	4	35	33	36	23	25	21	20	24	35	45	297.00	29.70
16	1	4	43	45	20	25	25	22	23	22	50	52	327.00	32.70
17	2	1	65	63	70	62	60	63	65	68	67	61	644.00	64.40
18	2	1	66	64	68	60	56	68	67	55	63	65	632.00	63.20
19	2	1	56	45	58	52	61	63	59	47	62	60	563.00	56.30
20	2	1	50	56	65	55	56	54	63	60	70	55	584.00	58.40
21	2	2	22	18	20	23	20	17	19	25	23	24	211.00	21.10
22	2	2	21	22	18	20	19	22	17	25	18	20	202.00	20.20
23	2	2	17	20	15	16	15	23	16	22	20	18	182.00	18.20
24	2	2	16	15	18	17	23	25	22	18	20	21	195.00	19.50
25	2	3	14	12	13	12	15	13	15	14	17	18	143.00	14.30
26	2	3	11	12	13	16	15	14	17	14	15	13	140.00	14.00
27	2	3	11	15	14	13	14	12	11	10	11	12	123.00	12.30
28	2	3	13	11	17	11	12	13	12	14	15	16	134.00	13.40
29	2	4	10	12	11	10	10	8	7	8	6	7	89.00	8.90
30	2	4	12	10	13	10	8	7	9	10	9	8	96.00	9.60
31	2	4	11	12	13	11	10	8	7	9	6	8	95.00	9.50
32	2	4	12	10	11	9	8	7	8	10	8	9	92.00	9.20
33	3	1	75	70	73	75	76	78	68	71	60	74	720.00	72.00
34	3	1	65	63	60	66	68	70	64	55	53	50	614.00	61.40
35	3	1	66	70	60	58	60	73	57	61	64	75	643.00	64.30
36	3	1	60	68	69	65	70	73	63	65	68	66	667.00	66.70
37	3	2	11	3	14	10	13	10	11	13	12	9	106.00	10.60
38	3	2	11	10	12	13	18	12	11	10	9	10	116.00	11.60
39	3	2	20	10	11	11	8	10	12	8	11	10	111.00	11.10

	lam	su	sp1	sp2	sp3	sp4	sp5	sp6	sp7	sp8	sp9	sp1	jsp	rsp
40	3	2	10	11	12	11	10	11	12	10	9	8	104.00	10.40
41	3	3	3	6	0	0	7	5	2	4	0	4	31.00	3.10
42	3	3	0	1	0	2	1	3	1	1	1	0	10.00	1.00
43	3	3	1	2	1	1	4	2	3	1	0	0	15.00	1.50
44	3	3	2	4	0	1	2	1	1	1	0	1	13.00	1.30
45	3	4
46	3	4
47	3	4
48	3	4

Lampiran 26 Hasil uji analisis varian dua arah jumlah sel spermatid 1 hari setelah akhir perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	12
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RSPTD

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	45056.761	1	45056.761	9.335	.055
	Error	14455.851	2.995	4826.763 ^a		
LAMA	Hypothesis	6034.080	2	3017.040	4.304	.082
	Error	3505.262	5	701.052 ^b		
SUHU	Hypothesis	14408.725	3	4802.908	6.851	.032
	Error	3505.262	5	701.052 ^b		
LAMA *	Hypothesis	3505.262	5	701.052	94.240	.000
SUHU	Error	245.488	33	7.439 ^c		

- a. 1.006 MS(SUHU) - 5.815E-03 MS(LAMA * SUHU)
- b. MS(LAMA * SUHU)
- c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	10.729	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	10.667	4.000	1.000	
LAMA *	.000	4.000	1.000	
SUHU				
Error	.000	.000	1.000	

- a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.
- b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Lampiran 27 Hasil uji BNT jumlah sel spermatid 1 hari setelah akhir perlakuan

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable: RSPTD

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
34.025 ^a	.411	33.188	34.862

a. Based on modified population marginal mean.

2. LAMA

Estimates

Dependent Variable: RSPTD

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	48.100	.682	46.713	49.487
2	25.781	.682	24.394	27.169
3	26.250 ^a	.787	24.648	27.852

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RSPTD

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	22.319 ^a	.964	.000	20.367	24.281
	3	21.850 ^{a,b}	1.042	.000	19.731	23.969
2	1	-22.319 ^a	.964	.000	-24.281	-20.367
	3	-.469 ^b	1.042	.656	-2.588	1.650
3	1	-21.850 ^{a,c}	1.042	.000	-23.969	-19.731
	2	.469 ^c	1.042	.656	-1.650	2.588

Based on estimated marginal means

- ^a. The mean difference is significant at the .05 level.
- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RSPTD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	4982.448	2	2491.224	334.886	.000
Error	245.488	33	7.439		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RSPTD

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	62.200	.787	60.598	63.802
2	27.125	.787	25.523	28.727
3	21.433	.787	19.831	23.035
4	21.000 ^a	.964	19.038	22.962

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RSPTD

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	35.075 ^a	1.113	.000	32.810	37.340
	3	40.767 ^a	1.113	.000	38.501	43.032
	4	41.200 ^{a,b}	1.245	.000	38.667	43.733
2	1	-35.075 ^a	1.113	.000	-37.340	-32.810
	3	5.692 ^a	1.113	.000	3.426	7.957
	4	6.125 ^{a,b}	1.245	.000	3.592	8.658
3	1	-40.767 ^a	1.113	.000	-43.032	-38.501
	2	-5.692 ^a	1.113	.000	-7.957	-3.426
	4	.433 ^b	1.245	.730	-2.099	2.966
4	1	-41.200 ^{a,b}	1.245	.000	-43.733	-38.667
	2	-6.125 ^{a,b}	1.245	.000	-8.658	-3.592
	3	-.433 ^c	1.245	.730	-2.966	2.099

Based on estimated marginal means

- ^a. The mean difference is significant at the .05 level.
- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RSPTD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	13357.093	3	4452.364	598.515	.000
Error	245.488	33	7.439		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RSPTD

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	59.925	1.364	57.150	62.700
	2	50.700	1.364	47.925	53.475
	3	49.075	1.364	46.300	51.850
	4	32.700	1.364	29.925	35.475
2	1	60.575	1.364	57.800	63.350
	2	19.750	1.364	16.975	22.525
	3	13.500	1.364	10.725	16.275
	4	9.300	1.364	6.525	12.075
3	1	66.100	1.364	63.325	68.875
	2	10.925	1.364	8.150	13.700
	3	1.725	1.364	-1.050	4.600
	4

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP
LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	9.22500*	1.92860	.000	5.30123	13.14877
	3	10.85000*	1.92860	.000	6.92623	14.77377
	4	27.22500*	1.92860	.000	23.30123	31.14877
	5	-6.65000	1.92860	.738	-4.57377	3.27377
	6	40.17500*	1.92860	.000	36.25123	44.09877
	7	46.42500*	1.92860	.000	42.50123	50.34877
	8	50.62500*	1.92860	.000	46.70123	54.54877
	9	-6.17500*	1.92860	.003	-10.09877	-2.25123
	10	49.00000*	1.92860	.000	45.07623	52.92377
	11	58.20000*	1.92860	.000	54.27623	62.12377
	2	1	-9.22500*	1.92860	.000	-13.14877
3		1.62500	1.92860	.406	-2.29877	5.54877
4		16.00000*	1.92860	.000	14.07623	21.92377
5		-9.87500*	1.92860	.000	-13.79877	-5.95123
6		30.95000*	1.92860	.000	27.02623	34.87377
7		37.20000*	1.92860	.000	33.27623	41.12377
8		41.40000*	1.92860	.000	37.47623	45.32377
9		-15.40000*	1.92860	.000	-19.32377	-11.47623
10		39.77500*	1.92860	.000	35.85123	43.69877
11		48.97500*	1.92860	.000	45.05123	52.89877
3		1	-10.95000*	1.92860	.000	-14.77377
	2	-1.62500	1.92860	.406	-5.54877	2.29877
	4	16.37500*	1.92860	.000	12.45123	20.29877
	5	-11.50000	1.92860	.000	-15.42377	-7.57623
	6	29.32500*	1.92860	.000	25.40123	33.24877
	7	35.57500*	1.92860	.000	31.65123	39.49877
	8	39.77500*	1.92860	.000	35.85123	43.69877
	9	-17.02500*	1.92860	.000	-20.94877	-13.10123
	10	38.15000*	1.92860	.000	34.22623	42.07377
	11	47.35000*	1.92860	.000	43.42623	51.27377

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP
LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-27.22500*	1.92860	.000	-31.14877	-23.30123
	2	-18.90000*	1.92860	.000	-21.92377	-14.07623
	3	-16.37500*	1.92860	.000	-20.29877	-12.45123
	5	-27.87500*	1.92860	.000	-31.79877	-23.95123
	6	12.95000*	1.92860	.000	9.02523	15.87377
	7	19.20000*	1.92860	.000	15.27823	23.12377
	8	23.40000*	1.92860	.000	19.47623	27.32377
	9	33.40000*	1.92860	.000	37.32377	29.47623
	10	21.77500*	1.92860	.000	17.85123	25.69877
	11	30.97500*	1.92860	.000	27.05123	34.89877
	5	1	.65000	1.92860	.738	-3.27377
2		9.87500*	1.92860	.000	5.95123	13.79877
3		11.50000*	1.92860	.000	7.57623	15.42377
4		27.87500*	1.92860	.000	23.95123	31.79877
6		43.92500*	1.92860	.000	36.90123	44.74877
7		47.07500*	1.92860	.000	43.15123	50.99877
8		51.27500*	1.92860	.000	47.35123	55.19877
9		-5.52500*	1.92860	.007	-9.44877	-1.60123
10		49.85000*	1.92860	.000	45.72623	53.97377
11		56.82500*	1.92860	.000	54.82623	62.77377
6		1	-40.17500*	1.92860	.000	-44.09877
	2	-30.95000*	1.92860	.000	-34.87377	-27.02623
	3	33.40000*	1.92860	.000	33.24877	25.40123
	4	-12.95000*	1.92860	.000	-16.87377	-9.02623
	5	-40.82500*	1.92860	.000	-44.74877	-36.90123
	7	5.25000*	1.92860	.003	2.32623	10.17377
	8	10.45000*	1.92860	.000	6.52623	14.37377
	9	-46.35000*	1.92860	.000	-50.27377	-42.42623
	10	8.92500*	1.92860	.000	4.90123	12.74877
	11	18.02500*	1.92860	.000	14.10123	21.94877

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-46.42500*	1.92860	.000	-50.34877	-42.50123
	2	-37.20000*	1.92860	.000	-41.12377	-33.27623
	3	-35.57500*	1.92860	.000	-39.49877	-31.65123
	4	-19.20000*	1.92860	.000	-23.12377	-15.27623
	5	-47.07500*	1.92860	.000	-50.99877	-43.15123
	6	-6.25000*	1.92860	.003	-10.17377	-2.32623
	8	4.20000*	1.92860	.037	.27523	8.12377
	9	52.80000*	1.92860	.000	56.52377	49.07623
	10	2.67500	1.92860	.191	-1.34877	6.49877
	11	11.77500*	1.92860	.000	7.85123	15.69877
	8	1	-50.62500*	1.92860	.000	-54.54877
2		-41.40000*	1.92860	.000	-45.32377	-37.47623
3		-39.77500*	1.92860	.000	-43.69877	-35.85123
4		-23.40000*	1.92860	.000	-27.32377	-19.47623
5		-51.27500*	1.92860	.000	-55.19877	-47.35123
6		-10.45000*	1.92860	.000	-14.37377	-6.52623
7		-4.20000*	1.92860	.007	-8.12377	-2.32623
9		-59.90000*	1.92860	.000	-63.72377	-56.07623
10		-1.60000	1.92860	.106	-5.54877	2.29877
11		7.37500	1.92860	.000	3.45123	11.49877
9		1	6.17500	1.92860	.023	2.25123
	2	15.40000*	1.92860	.000	11.47623	19.32377
	3	7.07500	1.92860	.000	3.10123	11.04877
	4	31.40000*	1.92860	.000	29.47623	33.32377
	5	1.57500	1.92860	.007	-1.69123	5.44877
	6	45.25000*	1.92860	.000	43.32377	47.17623
	7	52.50000*	1.92860	.000	49.87623	55.12377
	8	59.60000*	1.92860	.000	57.67623	61.52377
	10	65.17500*	1.92860	.000	63.25123	67.09877
	11	64.57500*	1.92860	.000	62.45123	66.29877

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-49.0000*	1.92860	.000	-52.92377	-45.07623
	2	-39.77500*	1.92860	.000	-43.69877	-35.85123
	3	-38.15000*	1.92860	.000	-42.07377	-34.22623
	4	-21.77500*	1.92860	.000	-25.69877	-17.85123
	5	-49.65000*	1.92860	.000	-53.57377	-45.72623
	6	-8.82500*	1.92860	.000	-12.74877	-4.90123
	7	-2.57500	1.92860	.191	-6.49877	1.34877
	8	1.62500	1.92860	.406	-2.29877	5.54877
	9	-55.17500*	1.92860	.000	-59.09877	-51.25123
	11	9.20000*	1.92860	.000	5.27623	13.12377
11	1	-58.20000*	1.92860	.000	-62.12377	-54.27623
	2	-48.97500*	1.92860	.000	-52.89877	-45.05123
	3	-47.35000*	1.92860	.000	-51.27377	-43.42623
	4	-30.97500*	1.92860	.000	-34.89877	-27.05123
	5	-58.85000*	1.92860	.000	-62.77377	-54.92623
	6	-18.02500*	1.92860	.000	-21.94877	-14.10123
	7	-11.77500*	1.92860	.000	-15.69877	-7.85123
	8	-7.57500*	1.92860	.000	-11.49877	-3.65123
	9	-64.37500*	1.92860	.000	-68.29877	-60.45123
	10	-9.20000*	1.92860	.000	-13.12377	-5.27623

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 28 Jumlah sel spermatid 35 hari setelah akhir perlakuan

	lam	suh	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp1	jrsp	rsp
1	1	1	75	72	66	60	65	77	70	71	78	65	699.00	69.90
2	1	1	45	50	43	81	86	80	70	66	84	80	674.00	67.40
3	1	1	65	70	68	74	80	84	86	60	75	70	732.00	73.20
4	1	1	65	60	75	70	64	80	85	51	71	55	676.00	67.60
5	1	2	78	75	65	55	60	58	62	56	64	70	643.00	64.30
6	1	2	60	80	61	63	75	70	76	78	75	81	719.00	71.90
7	1	2	63	65	66	73	75	68	65	68	70	80	693.00	69.30
8	1	2	72	70	73	70	85	60	81	70	68	62	711.00	71.10
9	1	3	60	56	60	55	61	58	63	60	65	62	600.00	60.00
10	1	3	55	62	60	50	58	65	64	62	68	60	604.00	60.40
11	1	3	56	55	60	63	66	45	66	50	65	57	582.00	58.20
12	1	3	55	61	65	62	66	70	60	56	75	58	628.00	62.80
13	1	4	58	50	60	50	62	30	54	52	55	64	535.00	53.50
14	1	4	52	58	66	51	63	40	45	60	50	63	547.00	54.70
15	1	4	36	30	35	40	40	42	43	65	55	67	453.00	45.30
16	1	4	58	53	60	51	55	50	30	35	52	55	497.00	49.70
17	2	1	75	74	73	68	78	80	70	76	75	72	741.00	74.10
18	2	1	80	78	83	85	75	84	81	76	75	73	790.00	79.00
19	2	1	85	83	76	74	78	75	60	63	65	80	739.00	73.90
20	2	1	75	70	82	72	83	83	81	76	80	75	777.00	77.70
21	2	2	24	21	26	25	24	25	23	23	20	21	232.00	23.20
22	2	2	22	24	26	28	25	27	24	23	25	21	245.00	24.50
23	2	2	25	23	24	22	22	26	28	25	27	23	245.00	24.50
24	2	2	18	20	22	28	23	21	25	23	20	21	221.00	22.10
25	2	3	15	15	14	13	15	16	14	14	15	17	148.00	14.80
26	2	3	17	15	13	12	14	18	15	14	15	16	149.00	14.90
27	2	3	19	18	20	17	21	16	15	16	17	11	170.00	17.00
28	2	3	18	14	15	14	16	14	13	16	16	14	150.00	15.00
29	2	4	15	12	13	14	11	13	14	12	11	10	125.00	12.50
30	2	4	14	16	14	15	13	16	17	15	14	12	146.00	14.60
31	2	4	15	11	12	11	13	10	13	12	10	11	118.00	11.80
32	2	4	10	12	10	9	11	12	13	11	12	12	112.00	11.20
33	3	1	78	70	75	80	76	75	74	73	75	68	744.00	74.40
34	3	1	65	66	75	71	70	65	68	70	78	73	701.00	70.10
35	3	1	76	73	70	77	83	79	82	80	74	70	763.00	76.30
36	3	1	84	83	81	80	82	85	80	76	75	70	796.00	79.60
37	3	2	20	18	17	15	18	21	16	20	21	18	184.00	18.40
38	3	2	15	16	16	17	17	18	19	20	21	15	174.00	17.40
39	3	2	19	18	20	19	17	21	20	17	16	18	185.00	18.50

	lam	suh	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp	rsp1	jrsp	rsp
40	3	2	22	20	21	19	17	21	16	15	14	15	180.00	18.00
41	3	3	0	0	2	3	0	1	5	2	3	2	18.00	1.80
42	3	3	2	1	1	3	2	5	2	1	2	2	21.00	2.10
43	3	3	3	0	0	1	2	0	1	0	2	1	10.00	1.00
44	3	3	2	3	1	0	0	1	2	1	2	3	15.00	1.50
45	3	4
46	3	4
47	3	4
48	3	4
49

Lampiran 29 Hasil uji analisis varian dua arah jumlah sel spermatid 35 hari setelah akhir perlakuan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
LAMA	1	16
	2	16
	3	12
SUHU	1	12
	2	12
	3	12
	4	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: RRSPD

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	72564.925	1	72564.925	12.320	.039
	Error	17628.828	2.993	5890.115 ^a		
LAMA	Hypothesis	10910.063	2	5455.031	4.578	.074
	Error	5957.747	5	1191.549 ^b		
SUHU	Hypothesis	17588.847	3	5862.949	4.920	.059
	Error	5957.747	5	1191.549 ^b		
LAMA *	Hypothesis	5957.747	5	1191.549	192.935	.000
SUHU	Error	203.805	33	6.176 ^c		

a. 1.006 MS(SUHU) - 5.816E-03 MS(LAMA * SUHU)

b. MS(LAMA * SUHU)

c. MS(Error)

Expected Mean Squares^{a,b}

Source	Variance Component			
	Var(SUHU)	Var(LAMA * SUHU)	Var(Error)	Quadratic Term
Intercept	10.729	4.000	1.000	Intercept, LAMA
LAMA	.000	4.000	1.000	LAMA
SUHU	10.667	4.000	1.000	
LAMA *	.000	4.000	1.000	
SUHU				
Error	.000	.000	1.000	

a. For each source, the expected mean square equals the sum of the coefficients in the cells times the variance components, plus a quadratic term involving effects in the Quadratic Term cell.

b. Expected Mean Squares are based on the Type III Sums of Squares.

Lampiran 30 Hasil uji BNT jumlah sel spermatid 35 hari setelah akhir perlakuan.

Estimated Marginal Means

1. LAMA

Estimatas

Dependent Variable: RRSPD

LAMA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	62.456	.621	61.192	63.720
2	31.925	.621	30.661	33.189
3	31.592 ^a	.717	30.132	33.051

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRSPD

(I) LAMA	(J) LAMA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	30.531 [*]	.879	.000	28.744	32.319
	3	30.865 ^a	.949	.000	28.934	32.795
2	1	-30.531 [*]	.879	.000	-32.319	-28.744
	3	.333 ^b	.949	.728	-1.597	2.264
3	1	-30.865 ^c	.949	.000	-32.795	-28.934
	2	-.333 ^c	.949	.728	-2.264	1.597

Based on estimated marginal means

- *. The mean difference is significant at the .05 level.
- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRSPD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	9580.843	2	4790.422	775.663	.000
Error	203.805	33	6.176		

The F tests the effect of LAMA. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. SUHU

Estimates

Dependent Variable: RRSPD

SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	73.600	.717	72.140	75.060
2	36.933	.717	35.474	38.393
3	25.792	.717	24.332	27.251
4	31.662 ^a	.879	29.875	33.450

a. Based on modified population marginal mean.

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: RRSPD

(I) SUHU	(J) SUHU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	36.667 [*]	1.015	.000	34.603	38.731
	3	47.808 [*]	1.015	.000	45.744	49.872
	4	41.938 [*]	1.134	.000	39.630	44.245
2	1	-36.667 [*]	1.015	.000	-38.731	-34.603
	3	11.142 [*]	1.015	.000	9.078	13.206
	4	5.271 [*]	1.134	.000	2.963	7.579
3	1	-47.808 [*]	1.015	.000	-49.872	-45.744
	2	-11.142 [*]	1.015	.000	-13.206	-9.078
	4	-5.871 [*]	1.134	.000	-8.179	-3.563
4	1	-41.938 [*]	1.134	.000	-44.245	-39.630
	2	-6.271 [*]	1.134	.000	-7.579	-2.963
	3	5.871 [*]	1.134	.000	3.563	8.179

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. An estimate of the modified population marginal mean (J).
- c. An estimate of the modified population marginal mean (I).

Univariate Tests

Dependent Variable: RRSPD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	16259.627	3	5419.876	877.583	.000
Error	203.805	33	6.176		

The F tests the effect of SUHU. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. LAMA * SUHU

Dependent Variable: RRSPD

LAMA	SUHU	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
1	1	69.525	1.243	66.997	72.053
	2	69.150	1.243	66.622	71.678
	3	60.350	1.243	57.822	62.878
	4	50.800	1.243	48.272	53.328
2	1	76.175	1.243	73.647	78.703
	2	23.575	1.243	21.047	26.103
	3	15.425	1.243	12.897	17.953
	4	12.525	1.243	9.997	15.053
3	1	75.100	1.243	72.672	77.628
	2	18.075	1.243	15.547	20.603
	3	1.600	1.243	-.928	4.128
	4

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.3750	1.7573	.832	-3.2002	3.9502
	3	9.1750*	1.7573	.000	5.6998	12.7502
	4	18.7250*	1.7573	.000	15.1498	22.3002
	5	-6.6500*	1.7573	.001	-10.2252	-3.0748
	6	45.9500*	1.7573	.000	42.3748	49.5252
	7	54.1000*	1.7573	.000	50.5248	57.6752
	8	57.0000*	1.7573	.000	53.4248	60.5752
	9	-5.5750*	1.7573	.003	-9.1502	-1.9998
	10	51.4500*	1.7573	.000	47.8748	55.0252
	11	67.9250*	1.7573	.000	64.3498	71.5002
2	1	-.3750	1.7573	.832	-3.9502	3.2002
	3	8.8000*	1.7573	.000	5.2248	12.3752
	4	18.3500*	1.7573	.000	14.7748	21.9252
	5	-7.0250*	1.7573	.000	-10.6002	-3.4498
	6	45.5750*	1.7573	.000	41.9998	49.1502
	7	53.7250*	1.7573	.000	50.1498	57.3002
	8	56.6250*	1.7573	.000	53.0498	60.2002
	9	-5.9500*	1.7573	.002	-9.5252	-2.3748
	10	51.0750*	1.7573	.000	47.4998	54.6502
	11	67.5500*	1.7573	.000	63.9748	71.1252
3	1	-9.1750*	1.7573	.000	-12.7502	-5.5998
	2	-8.8000*	1.7573	.000	-12.3752	-5.2248
	4	9.5500*	1.7573	.000	5.9748	13.1252
	5	-15.8250*	1.7573	.000	-19.4002	-12.2498
	6	36.7750*	1.7573	.000	33.1998	40.3502
	7	44.9250*	1.7573	.000	41.3498	48.5002
	8	47.8250*	1.7573	.000	44.2498	51.4002
	9	-14.7500*	1.7573	.000	-18.3252	-11.1748
	10	42.2750*	1.7573	.000	38.6998	45.8502
	11	58.7500*	1.7573	.000	55.1748	62.3252

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4	1	-18.7250*	1.7573	.000	-22.3002	-15.1498
	2	-18.3500*	1.7573	.000	-21.9252	-14.7748
	3	-9.5500*	1.7573	.000	-13.1252	-5.9748
	5	-25.3750*	1.7573	.000	-28.9502	-21.7998
	6	27.2250*	1.7573	.000	23.6498	30.8002
	7	35.3750*	1.7573	.000	31.7998	38.9502
	8	38.2750*	1.7573	.000	34.6998	41.8502
	9	-24.3000*	1.7573	.000	-27.8752	-20.7248
	10	32.7250*	1.7573	.000	29.1498	36.3002
	11	49.2000*	1.7573	.000	45.6248	52.7752
	5	1	6.6500*	1.7573	.001	3.0748
2		7.0250*	1.7573	.000	3.4498	10.6002
3		15.8250*	1.7573	.000	12.2498	19.4002
4		25.3750*	1.7573	.000	21.7998	28.9502
6		52.6000*	1.7573	.000	49.0248	56.1752
7		60.7500*	1.7573	.000	57.1748	64.3252
8		63.6500*	1.7573	.000	60.0748	67.2252
9		1.0750	1.7573	.545	-2.5002	4.6502
10		58.1000*	1.7573	.000	54.5248	61.6752
11		74.5750*	1.7573	.000	70.9998	78.1502
6		1	-45.9500*	1.7573	.000	-49.5252
	2	-45.5750*	1.7573	.000	-49.1502	-41.9998
	3	-36.7750*	1.7573	.000	-40.3502	-33.1988
	4	-27.2250*	1.7573	.000	-30.8002	-23.6498
	5	-52.6000*	1.7573	.000	-56.1752	-49.0248
	7	8.1500*	1.7573	.000	4.5748	11.7252
	8	11.0500*	1.7573	.000	7.4748	14.6252
	9	-51.5250*	1.7573	.000	-55.1002	-47.9498
	10	5.5000*	1.7573	.004	1.9248	9.0752
	11	21.9750*	1.7573	.000	18.3998	25.5502

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	1	-54.1000*	1.7573	.000	-57.6752	-50.5248
	2	-53.7250*	1.7573	.000	-57.3002	-50.1498
	3	-44.9250*	1.7573	.000	-48.5002	-41.3498
	4	-36.3750*	1.7573	.000	-39.9502	-31.7998
	5	-60.7500*	1.7573	.000	-64.3252	-57.1748
	6	-8.1500*	1.7573	.000	-11.7252	-4.5748
	8	2.9000	1.7573	.108	-.6752	6.4752
	9	-59.6750*	1.7573	.000	-63.2502	-56.0998
	10	-2.6600	1.7573	.141	-6.2252	.9252
	11	13.8250*	1.7573	.000	10.2498	17.4002
	8	1	-57.0000*	1.7573	.000	-60.5752
2		-56.6250*	1.7573	.000	-60.2002	-53.0498
3		-47.8250*	1.7573	.000	-51.4002	-44.2498
4		-38.2750*	1.7573	.000	-41.8502	-34.6998
5		-63.6500*	1.7573	.000	-67.2252	-60.0748
6		-11.0500*	1.7573	.000	-14.6252	-7.4748
7		-2.9000	1.7573	.108	-6.4752	.6752
9		-62.5750*	1.7573	.000	-66.1502	-58.9998
10		-5.5500*	1.7573	.003	-9.1252	-1.9748
11		10.9250*	1.7573	.000	7.3498	14.5002
9		1	5.5750*	1.7573	.003	1.9998
	2	5.9500*	1.7573	.002	2.3748	9.5252
	3	14.7500*	1.7573	.000	11.1748	18.3252
	4	24.3000*	1.7573	.000	20.7248	27.8752
	5	-1.0750	1.7573	.545	-4.6502	2.5002
	6	51.5250*	1.7573	.000	47.9498	55.1002
	7	59.8750*	1.7573	.000	56.0998	63.2502
	8	62.5750*	1.7573	.000	58.9998	66.1502
	10	57.0250*	1.7573	.000	53.4498	60.6002
	11	73.5000*	1.7573	.000	69.9248	77.0752

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RSP

LSD

(I) INTER	(J) INTER	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	1	-51.4500*	1.7573	.000	-55.0252	-47.8748
	2	-51.0750*	1.7573	.000	-54.6502	-47.4998
	3	-42.2750*	1.7573	.000	-46.8502	-38.6998
	4	-32.7250*	1.7573	.000	-36.3002	-29.1498
	5	-58.1000*	1.7573	.000	-61.6752	-54.5248
	6	-5.5000*	1.7573	.004	-9.0752	-1.9248
	7	2.6500	1.7573	.141	-.9252	6.2252
	8	5.5500*	1.7573	.003	1.9748	9.1252
	9	-57.0250*	1.7573	.000	-60.6002	-53.4498
	11	16.4750*	1.7573	.000	12.8998	20.0502
	11	1	-67.9250*	1.7573	.000	-71.5002
2		-67.5500*	1.7573	.000	-71.1252	-63.9748
3		-58.7500*	1.7573	.000	-62.3252	-55.1748
4		-49.2000*	1.7573	.000	-52.7752	-45.6248
5		-74.5750*	1.7573	.000	-78.1502	-70.9998
6		-21.9750*	1.7573	.000	-25.5502	-18.3998
7		-13.8250*	1.7573	.000	-17.4002	-10.2498
8		-10.9250*	1.7573	.000	-14.5002	-7.3498
9		-73.5000*	1.7573	.000	-77.0752	-69.9248
10		-16.4750*	1.7573	.000	-20.0502	-12.8998

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 31. Prosedur pembuatan sediaan histologis testis mencit

Untuk pembuatan preparat histologi, dipersiapkan testis yang sudah dibersihkan dari jaringan sekitar masing-masing dari kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3, kemudian dimasukkan kedalam larutan Bouin's sebagai fiksasinya sekaligus bahan untuk transportasi agar testis tidak rusak.

Cara pembuatan sediaan histologi dilakukan beberapa tahap :

Fiksasi

Dilakukan dengan menggunakan larutan Bouin's, testis direndam selama 24 jam.

Pencucian

Merendam jaringan testis sebanyak tiga kali kedalam larutan alkohol 70 %

Dehidrasi

Merendam jaringan testis kedalam alkohol berturut-turut dimulai dengan alkohol 70% selama satu jam, selanjutnya alkohol 80% selama 2 jam, alkohol 90% selama 2 jam dan akhirnya alkohol 100 % selama 1 jam sampai 18 jam.

Clearing

Memasukkan jaringan testis kedalam campuran alkohol dan xylol dengan perbandingan 1 : 1, secara berturut-turut 3 kali masing-masing 1 jam, kemudian jaringan testis direndam dalam xylol selama setengah jam.

infiltrasi

Mula-mula jaringan testis dimasukkan kedalam campuran parafin dan xylol dengan perbandingan 1 : 1 selama setengah jam didalam lemari pemanas dengan temperatur 65°C kemudian jaringan testis dimasukkan kedalam parafin murni 3 kali masing-masing selama 45 menit.

Embedding

Mencetakkan jaringan testis dengan parafin cair dan panas, dituangkan kedalam cetakan berbentuk kubus. Kemudian jaringan testis dimasukkan kedalamnya dengan posisi yang diatur sedemikian rupa, dianginkan hingga parafin menjadi beku.

Trimming

Memotong bagian sudut-sudut yang runcing pada cetakan parafin yang sudah beku, untuk mempermudah proses pemotongan dengan mikrotom.

Pemotongan

Memotong cetakan parafin dengan mikrotom, dengan tebal sayatan sekitar 5 mikron. Cetakan parafin yang sudah beku dan berisi jaringan testis ditempelkan pada alat pemegang yang terdapat pada mikrotom untuk proses pemotongan selanjutnya.

Pisau mikrotom diatur dengan membuat sudut sekitar 60° terhadap sayatan tersebut.

Affixing

Meletakkan lembaran sayatan hasil pemotongan pada sediaan dengan menggunakan perekat albumin dari Meyer. Sayatan diletakkan diatas kaca sediaan yang telah dibersihkan dari lemak dan telah ditetesi dengan perekat albumin dari Meyer. Kemudian sediaan diletakkan diatas lempeng besi panas (slide warmer) selama 24 jam, supaya parafin mengembang dan jaringan dapat diatur agar sempurna letaknya.

Rehidrasi

Mula-mula dimasukkan kedalam larutan xylol 2 kali agar sisa parafin dapat larut. Kemudian dimasukkan kedalam alkohol secara berurutan dari alkohol 100 % 2 kali, 90% dan 70% masing-masing selama 3 menit, terakhir dimasukkan kedalam air sampai jaringan berwarna putih.

Pewarnaan

Sediaan dimasukkan kedalam larutan *Erllich's acid haematoxylline* selama 4 menit, kemudian dicuci dengan air. Sisa-sisa zat warna yang mengotori kaca sediaan dibersihkan dengan kertas pembersih. Yang perlu diperhatikan apakah warna sediaan sudah cukup baik dan kontras terhadap jaringan testis tersebut.

Dehidrasi

Merendam kembali sediaan secara berurutan selama 1 menit masing-masing kedalam larutan alkohol 90%, 100% 2 kali, kemudian direndam dalam larutan xylol 2 kali sambil dibersihkan.

Mounting

Merupakan suatu proses yang digunakan untuk melekatkan kaca penutup jaringan testis diatas kaca sediaan. Mula-mula perekat balsam Canada ditetaskan secukupnya diatas jaringan testis yang terletak diatas kaca sediaan. Kemudian dengan posisi miring dan hati-hati kaca penutup jaringan ditempelkan diatasnya, dan yang perlu diperhatikan adalah agar tidak ada gelembung udara yang masuk disela-sela antara kedua kaca tersebut. Sisa-sisa perekat yang berasal dari sediaan dibersihkan selama 24-28 jam.

Labelling

Masing-masing sediaan diberi label sesuai dengan nomor urut sampel dan asal kelompok agar mudah diidentifikasi. Selanjutnya pemotretan dan pengukuran terhadap hasil sediaan histologis. Pemotretan dilakukan secara foto mikrografi dan pengukuran diameter tubulus seminiferus dengan menggunakan okuler mikrometer yang sudah dikalibrasi.

Cara pengukuran diameter tubulus seminiferus, menghitung jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatid :

Testis yang akan dibuat sediaan histologis difiksasi dengan larutan Bouin's selama 24 jam, kemudian diproses dengan alat Autotechnicon yang dijalankan secara otomatis selama sehari semalam (24 jam). Dari satu testis diambil satu potongan melintang tepat tegak lurus sumbu panjangnya dengan ketebalan kurang lebih 0,3 cm. Setelah diproses dan diblok dengan parafin, sediaan dipotong dengan mikrotom putar dengan ketebalan 5 mikron. Dari satu

blok sediaan testis kanan diambil 6 irisan dengan jarak antara satu irisan dengan irisan yang lain kurang lebih 15 irisan. Irisan-irisan tersebut ditempelkan pada obyek-obyek gelas yang sudah diberi tanda dan diidentifikasi. Kemudian sediaan dicat dengan pengecatan *haematoxylline* (Russel et al, 1990).

Cara pengumpulan data :

Dari testis yang berasal dari seekor mencit dicari diantara 6 irisan testis yang dibuat tersebut sebanyak 25 potongan melintang tubulus seminiferus. Dicari sedapat mungkin yang benar-benar terpotong tegak lurus dengan sumbu panjangnya, yaitu yang penampangnya melintangnya tampak benar-benar bulat. Dipilih tahap VII siklus epitelium karena mudah dikenali dan permukaan lumennya relatif rata sehingga memudahkan pengukuran diameter tubulus seminiferus, disamping juga tetap dapat mudah dikenalnya sel spermatosit primer pakiten dan spermatid bulat. Dengan memilih salah satu tahap saja sebagai unsur pembandingan antar kelompok hewan percobaan, diharapkan akan didapat angka-angka yang reliable. Duapuluh lima potongan tersebut diambil secara random, dengan menggerakkan sediaan sepanjang sumbu X dan Y dengan jarak 8 mikron setiap perpindahan, secara uniform random sampling, pengukuran diameter tubulus seminiferus dengan menggunakan okuler mikrometer, untuk menghitung jumlah sel spermatogonia, spermatosid primer dan spermatid menggunakan mikroskop dengan pembesaran obyektif 40 X dan dilakukan dengan bantuan alat *counter*.

Cara pengukuran diameter tubulus seminiferus (Lothar W. et al, 1976) :

Dengan mengukur jarak terdekat antara dua titik yang bersebrangan pada garis tengahnya, dimana titik tersebut berada pada batas antara membrana basalis dan sel epitelium germinal.

TO

TANI

75
No. 1
C. 5
D. 1