

Lampiran

Lampiran 1. Evaluasi Statistik Diameter Tubulus Seminiferus dalam mikrometer dengan Mikroskop Pembesaran 100x.

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	127,33	122,7	138,9	134,27
2	122,68	134,27	134,27	136,59
3	136,59	127,33	131,96	131,96
4	131,96	134,27	120,38	125,01
5	127,33	123,16	134,27	134,27
6	129,64	129,64	129,64	127,33
7	131,96	127,33	134,27	129,64
8	138,9	131,96	134,29	136,59
9	127,33	136,59	131,96	122,7
10	131,96	125,01	138,9	120,38
ΣX	1305,68	1292,26	1328,84	1298,74
X	130,568	129,226	132,884	129,874
SD	4,7846	4,9115	5,2568	5,8213

$$FK = \frac{(5225,52)^2}{40} = 682651,4818$$

$$JKT = (127,33)^2 + (122,68)^2 + \dots + (120,38)^2 - 682651,4818$$

$$= 683704,5968 - 682651,4818$$

$$= 1053,115$$

$$JKP = \frac{(1305,68)^2 + (1292,26)^2 + (1328,84)^2 + (1298,74)^2}{10} -$$

$$682651,4818$$

$$= 682727,7503 - 682651,4818$$

$$= 76,2685$$

$$JKS = 1053,115 - 76,2685$$

$$= 976,8465$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut:

$$KTP = \frac{76,2685}{3} = 25,4228$$

$$KTS = \frac{976,8465}{36} = 27,1346$$

$$F_{hit} = \frac{25,4228}{27,1346} = 0,9369$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	76,2685	25,4228	0,9369	2,862	4,372
Sisa	36	976,8465	27,1346			
Total	39	1053,115				

Setelah diuji dengan sidik ragam ternyata $F_{hitung} < F_{tabel} (0,05)$, sehingga dari keempat perlakuan tersebut tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap diameter tubulus seminiferus.

Lampiran 2. Evaluasi Statistik Jumlah sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus Testis Mencit Setelah Pemberian Hesperidin.

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	36,5	34,4	32,7	33
2	32,3	35	32,2	28,3
3	35	32,7	33	30,7
4	33	30,2	36	32,2
5	38	36	32	34
6	34,7	34	35	31
7	37	36,3	30,8	32,5
8	36,2	35	32,3	28,2
9	33,3	33	34,8	34
10	35,8	37,8	31	29,8
ΣX	351,8	344,3	329,8	313,7
X	35,18	34,43	32,98	31,37
SD	1,8642	2,1370	1,7415	2,1330

$$FK = \frac{(1339,6)^2}{40} = 44863,204$$

$$\begin{aligned} JKT &= (36,5)^2 + (32,3)^2 + \dots + (29,8)^2 - 44863,204 \\ &= 45088,8 - 44863,204 \\ &= 225,596 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{(351,8)^2 + (344,3)^2 + (329,8)^2 + (313,7)^2}{10} - 44863,204 \\ &= 44948,146 - 44863,204 \\ &= 84,942 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKS &= 225,596 - 84,942 \\ &= 140,654 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut:

$$KTP = \frac{84,943}{3} = 28,314$$

$$KTS = \frac{140,654}{36} = 3,907$$

$$F_{hit} = \frac{28,314}{3,907} = 7,247$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}
					0,05
Perlakuan Sisa	3 36	84,942 140,654	28,314 3,907	7,247	2,862
Total	39	225,596			

Analisa data dengan menggunakan uji F menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang nyata terhadap jumlah spermatogonium.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)

$$BNT (\alpha) = t (\alpha) \text{ (db. Sisa)} \times \sqrt{\frac{2.KTS}{n}}$$

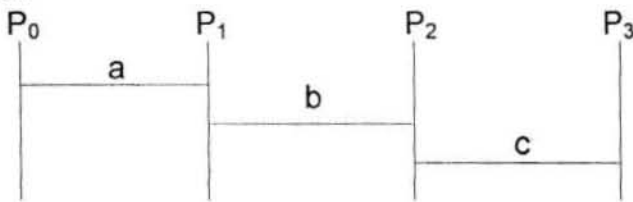
$$BNT (5\%) = t (5\%) \text{ (36)} \times \sqrt{\frac{2 \times 3,907}{10}}$$

$$= 2,028 \times 0,884$$

$$= 1,793$$

Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda Selisih			BNT 5%
		X-P ₃	X-P ₂	X-P ₁	
P ₀	35,18 ^a	3,81*	2,2*	0,75	1,793
P ₁	34,43 ^{ab}	3,06*	1,45		
P ₂	32,98 ^{bc}	1,61			
P ₃	31,37 ^c				

Notasi:

Analisis statistik dengan uji BNT 5% menunjukkan kelompok kontrol/P₀ (pemberian aquades) mempunyai jumlah spermatogonium terbanyak yang tidak berbeda nyata dengan pemberian hesperidin dosis 100 mg/kg bb (P₁). Jumlah spermatogonium paling sedikit pada pemberian dosis 300 mg/kg bb (P₃) meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan dua dosis 200 mg/kg bb (P₂).

Lampiran 3. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatoosit Primer dan Spermatoosit Sekunder dalam Tubulus Seminiferus Testis Mencit Setelah Pemberian Hesperidin.

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	48,2	46,5	43	41
2	43,7	44	46,5	39,3
3	42,3	40	42	42,5
4	44	43	45,2	44,2
5	50,8	48,2	40,2	46
6	47	45	45	38
7	45,3	43	40	44,5
8	49,5	40,7	41,8	40,2
9	43	45,2	43,5	42
10	47,3	46,8	44,5	43
ΣX	461,1	442,4	431,7	420,7
X	46,11	44,24	43,17	42,07
SD	2,8900	2,6349	2,1751	2,4904

$$FK = \frac{(1755,9)^2}{40} = 77079,620$$

$$\begin{aligned} JKT &= (48,2)^2 + (43,7)^2 + \dots + (43)^2 - 77079,620 \\ &= 77404,49 - 77079,620 \\ &= 324,87 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{(461,1)^2 + (442,4)^2 + (431,7)^2 + (420,7)^2}{10} - 77079,620 \\ &= 77168,435 - 77079,620 \\ &= 88,815 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKS &= 324,87 - 77079,620 \\ &= 236,055 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut:

$$KTP = \frac{88,815}{3} = 29,605$$

$$KTS = \frac{236,055}{36} = 6,557$$

$$F_{hit} = \frac{29,605}{6,557} = 4,515$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}
					0,05
Perlakuan Sisa	3 36	88,815 236,055	29,605 6,557	4,515	2,862
Total	39	324,87			

Analisa data dengan menggunakan uji F menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang nyata terhadap jumlah spermatisit.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)

$$BNT (\alpha) = t (\alpha) (db. Sisa) \times \sqrt{\frac{2.KTS}{n}}$$

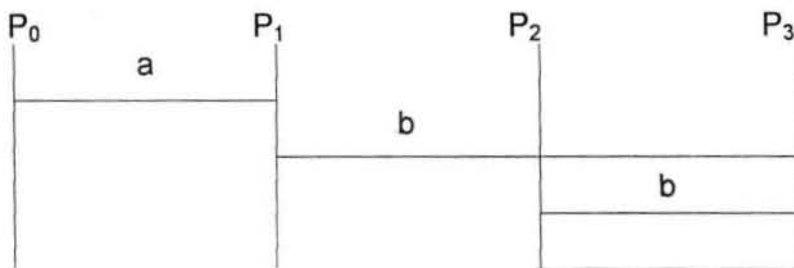
$$BNT (5\%) = t (5\%) (36) \times \sqrt{\frac{2 \times 6,557}{10}}$$

$$= 2,028 \times 1,145$$

$$= 2,322$$

Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda Selisih			BNT 5%
		X-P ₃	X-P ₂	X-P ₁	
P ₀	46,11 ^a	4,04*	2,94*	1,87	2,322
P ₁	44,24 ^b	2,17*	1,07		
P ₂	43,17 ^b	1,1			
P ₃	42,07 ^b				

Notasi:

Analisis statistik dengan uji BNT menunjukkan kelompok kontrol/P₀ mempunyai jumlah spermatisit terbanyak dibanding lainnya meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan satu (P₁). Jumlah spermatisit paling sedikit terdapat pada pemberian hesperidin dosis 300 mg/kg bb (P₃) yang tidak berbeda nyata dengan P₁ dan P₂.

Lampiran 4. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatid dalam Tubulus Seminiferus Testis Mencit Setelah Pemberian Hesperidin

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	45	43,2	38,8	37
2	42,5	39	40,5	35,5
3	39,8	35,2	37,2	39
4	41	40,7	36	36,2
5	46,2	44,8	41,8	39,5
6	42	38	40,5	34,2
7	40	41	38	38,3
8	45	37	35,5	31,5
9	40,2	35,5	38,5	35,7
10	43,7	442,7	40	36,8
ΣX	425,4	397,1	386,8	363,7
X	42,54	39,71	38,68	36,37
SD	2,3320	3,3084	2,0574	2,3730

$$FK = \frac{(1573)^2}{40} = 61858,225$$

$$\begin{aligned} JKT &= (45)^2 + (42,5)^2 + \dots + (36,8)^2 - 61858,225 \\ &= 62455,58 - 61858,225 \\ &= 597,355 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{(425,4)^2 + (397,1)^2 + (386,8)^2 + (363,7)^2}{10} - 61858,225 \\ &= 62054,55 - 61858,225 \\ &= 196,325 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKS &= 597,355 - 196,325 \\ &= 401,03 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut:

$$KTP = \frac{196,325}{3} = 65,442$$

$$KTS = \frac{402,03}{36} = 11,140$$

$$F_{hit} = \frac{65,442}{11,140} = 5,875$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}
					0,05
Perlakuan Sisa	3 36	196,325 401,03	65,442 11,140	5,875	2,862
Total	39	597,355			

Analisa data dengan menggunakan uji F menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang nyata terhadap jumlah spermatid.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)

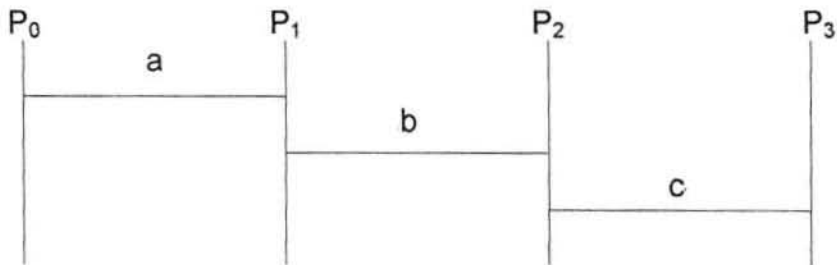
$$BNT (\alpha) = t (\alpha) (\text{db. Sisa}) \times \sqrt{\frac{2.KTS}{n}}$$

$$\begin{aligned} BNT (5\%) &= t (5\%) (36) \times \sqrt{\frac{2 \times 11,140}{10}} \\ &= 2,028 \times 1,493 \\ &= 3,027 \end{aligned}$$

Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda Selisih			BNT 5%
		X-P ₃	X-P ₂	X-P ₁	
P ₀	42,54 ^a	6,17*	3,86*	2,83	3,027
P ₁	39,71 ^{ab}	3,34*	1,03		
P ₂	38,68 ^{bc}	2,31			
P ₃	36,37 ^c				

Notasi:



Analisis statistik dengan uji BNT menunjukkan kelompok kontrol/P₀ mempunyai jumlah spermatid terbanyak dibanding lainnya meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan satu (P₁). Jumlah spermatid paling sedikit terdapat pada pemberian hesperidin dosis 300 mg/kg bb (P₃) yang tidak berbeda nyata dengan P₂.

Lampiran 5. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatoza dalam Tubulus Seminiferus Testis Mencit Setelah Pemberian Hesperidin.

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	46	41,8	40,2	38,3
2	43,5	39,5	37,3	36,7
3	38,5	36,8	41	39
4	40,8	38,5	39,5	35,2
5	45,2	43	40	37,8
6	39,8	41,7	38,2	38,5
7	42,5	40,7	36	37,8
8	43	39	38	40
9	42,5	42,3	39,7	36,5
10	41,5	44,5	41	39,7
ΣX	423,3	407,8	390,9	379,5
X	42,33	40,78	39,09	37,95
SD	2,3017	2,3289	1,6543	1,4931

$$FK = \frac{(1601)^2}{40} = 64120,056$$

$$\begin{aligned} JKT &= (46)^2 + (43,5)^2 + \dots + (39,7)^2 - 64120,056 \\ &= 64371,87 - 64120,056 \\ &= 251,814 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{(423,3)^2 + (407,8)^2 + (390,9)^2 + (379,5)^2}{10} - 64120,056 \\ &= 64230,679 - 64120,056 \\ &= 110,623 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKS &= 251,814 - 110,623 \\ &= 141,19 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut:

$$KTP = \frac{110,623}{3} = 36,874$$

$$KTS = \frac{141,191}{36} = 3,922$$

$$F_{hit} = \frac{36,874}{3,922} = 9,402$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	Db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}
					0,05
Perlakuan Sisa	3	110,623	36,874	9,402	2,862
	36	141,191	3,922		
Total	39	251,814			

Analisa data dengan menggunakan uji F menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang nyata terhadap jumlah spermatozoa.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)

$$BNT(\alpha) = t(\alpha) \text{ (db. Sisa)} \times \sqrt{\frac{2.KTS}{n}}$$

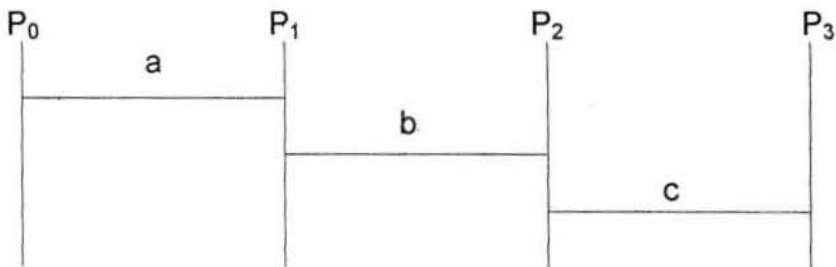
$$BNT(5\%) = t(5\%) \text{ (36)} \times \sqrt{\frac{2 \times 3,922}{10}}$$

$$= 2,028 \times 0,886$$

$$= 1,796$$

Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda Selisih			BNT 5%
		X-P ₃	X-P ₂	X-P ₁	
P ₀	42,33 ^a	4,38*	3,24*	1,55	1,976
P ₁	40,78 ^{ab}	2,83*	1,69		
P ₂	39,09 ^{bc}	1,14			
P ₃	37,95 ^c				

Notasi:

Analisis statistik dengan uji BNT menunjukkan kelompok kontrol/P₀ mempunyai jumlah spermatozoa terbanyak dibanding lainnya meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan satu (P₁). Jumlah spermatozoa paling sedikit terdapat pada pemberian hesperidin dosis 300 mg/kg bb (P₃) yang tidak berbeda nyata dengan P₂.

Lampiran 6. Pembuatan Sediaan Histologi Testis

Pembuatan sediaan histologi ini dilakukan dilaboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dengan cara sebagai berikut:

a. Fiksasi dan Pencucian

Tujuan : Mencegah terjadinya degenerasi pasca mati.

Mematikan kuman atau bakteri.

Meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam-macam zat warna.

Menjadikan jaringan lebih keras sehingga mudah dipotong.

Reagen : Formalin 10%

Cara kerja : Setelah diadakan seksi testis dimasukkan ke dalam formalin 10% selama 24 jam kemudian dicuci dengan air kran yang mengalir selama 30 menit.

b. Dehidrasi dan Clearing

Tujuan : Untuk menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan jaringan.

Reagen : Alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II.

Cara kerja : Testis dimasukkan dalam reagen dengan urutan: alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II masing-masing selama 30 menit.

c. Infiltrasi (enbedding)

Tujuan : Untuk menginfiltrasi jaringan dengan parafin. Parafin akan menembus ruangan antar sel dan dalam sel sehingga lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : Parafin I dan II

Cara kerja : Jaringan dimasukkan dalam parafin I yang mencair kemudian dioven 30 menit selanjutnya dimasukkan lagi ke dalam oven selama 30 menit pada suhu 58 sampai 60°C.

d. Pembuatan balok parafin

Tujuan : Untuk memudahkan pemotongan jaringan

Reagen : Parafin cair

Cara kerja : Menyediakan cetakan besi yang sebelumnya diolesi gliserin untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan. Setelah parafin dituang pada cetakan, testis dimasukkan dengan pinset dan ditunggu sampai parafin membeku.

e. Pengirisan dengan Mikrotom

Tujuan : Memotong jaringan sehingga mudah dilihat di bawah mikroskop.

Alat : Mikrotom

Cara kerja : Pemotongan diambil secara random, tiap kali pemotongan diambil satu dengan tebal lima sampai tujuh mikron kemudian dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu 20 sampai 30°C sampai jaringan berkembang dengan baik dan mekar kemudian diletakkan pada gelas obyek yang telah diolesi dengan putih telur kemudian dikeringkan di atas hot plate.

f. Pewarnaan

Tujuan : Memudahkan melihat perubahan jaringan, digunakan pewarna Haematoxylin Eosin. Dengan pewarnaan ini dapat dilihat dengan jelas bentuk masing-masing selnya dimana sitoplasmanya berwarna merah sedangkan intinya berwarna biru.

Cara kerja : Pewarnaan HE dilakukan dengan metode Harris, dengan cara sebagai berikut: hepar yang mulai kering dimasukkan ke dalam xylol I selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, kemudian alkohol absolut I dan II, alkohol 96%, 80%,

70%, dan air kran masing-masing satu menit. Selanjutnya hepar dimasukkan ke dalam zat warna Haematoxylin selama lima sampai sepuluh menit, air kran dua sampai lima menit, asam alkohol tiga sampai sepuluh celupan, air kran empat sampai tujuh celupan, amoniak enam celupan, air kran sepuluh menit, aquades secukupnya, zat warna Eosin selama seperempat menit, kemudian dimasukkan lagi ke dalam aquades secukupnya. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80% masing-masing selama setengah menit, alkohol 96%, alkohol absolut I dan II selama satu menit. Kemudian dimasukkan ke dalam xylol I dan II selama satu sampai dua menit selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Penutupan dengan gelas penutup

Obyek glass ditutup dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi dengan Canada Balsem yang dicampur dengan sodium karbonat.