

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Hewan Percobaan Fakultas Farmasi. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histologi di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dilakukan pada tanggal 13 Oktober 1999 sampai dengan 5 Februari 2000.

III.2. Materi Penelitian

III.2.1. Hewan Percobaan

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan strain BALB-C yang sudah diuji fertilitasnya, berumur dua-tiga bulan dengan berat badan rata-rata 20 – 40 gram. Mencit tersebut diperoleh dari Pusvetma.

III.2.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan ialah : Hesperidin bentuk serbuk (Fluka), aquadest, pakan ayam jenis Par-G, air minum, alkohol, Canada balsem, formalin 10 %, paraffin, zat warna Hematoxylin Eosin, dan xilol.

III.2.3. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: timbangan elektronik Sartorius 2402, mikroskop, mikrometer okuler dan kamera. Kandang mencit yang terbuat dari plastik polypropilen, tempat makan dari plastik, tempat minum dari botol dengan tutup pipa, spuit yang dimodifikasi dengan ujung tumpul, tabung erlenmeyer, pinset, gunting anatomi, pot plastik

I.3. Metode Penelitian

III.3.1. Persiapan Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan 40 ekor mencit jantan yang dibagi secara acak dalam empat kelompok perlakuan yang terdiri atas sepuluh ulangan. Semua mencit dimasukkan dalam kandang yang dilengkapi tempat pakan dan minum. Mencit-mencit tersebut diadaptasikan selama satu minggu. Semua mencit mendapat perawatan yang sama selama perlakuan dan setiap minggu dilakukan penimbangan berat badan untuk penentuan dosis perlakuan.

III.3.2. Perlakuan Hewan Percobaan

Empat puluh ekor mencit dibagi secara acak menjadi empat kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri 10 ekor mencit. Empat perlakuan itu adalah :

Kelompok P₀ : diberikan 0,5 ml aquadest sebagai kelompok kontrol.

- Kelompok P₁ : diberikan hesperidin 100 mg/kg bb setiap hari selama 52 hari.
- Kelompok P₂ : diberikan hesperidin 200 mg/kg bb setiap hari selama 52 hari.
- Kelompok P₃ : diberikan hesperidin 300 mg/kg bb setiap hari selama 52 hari.

Dosis hesperidin diberikan pada mencit berdasarkan dosis yang diberikan pada manusia (Zaneveld, 1976).

Pemberian hesperidin per oral dilaksanakan setiap hari selama 52 hari (1,5 siklus spermatogenesis). Cara pemberian dengan menggunakan syringe disposable tuberculine satu milimeter yang dilengkapi jarum khusus yang ujungnya tumpul (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Pada hari ke 54 mencit dari semua kelompok perlakuan dibunuh dengan cara pembiusan yaitu hewan percobaan dimasukkan ke dalam toples kaca yang berisi kloroform. Setelah mati dilakukan pembedahan untuk mengambil testis. Masing-masing testis dimasukkan ke dalam pot obat yang berisi formalin 10% untuk dibuat preparat histologi.

1.4. Peubah Yang Diamati

Pengamatan dilakukan terhadap histologi testis yang meliputi: diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid, dan sel spermatozoa.

Pengukuran diameter tubulus seminiferus dengan menggunakan mikrometer okuler yang telah distandarisasikan, dengan skala satu strip sebanding 13,89 mikrometer. Diameter tubulus seminiferus diukur pada diameter terpendek.

Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop dengan menggunakan pembesaran 100x kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 400x. Cara penilaiannya dengan melakukan penghitungan pada tiga potongan testis yang berbeda untuk setiap ulangan pada masing-masing perlakuan. Tiap potongan dilakukan pengamatan pada dua tubulus seminiferus yang besarnya kurang lebih sama. Hasilnya diambil rata-rata dari jumlah masing-masing perhitungan. Perhitungan ini merupakan modifikasi dari prosedur yang digunakan oleh Tedja (1993).

III.5. Rancangan Penelitian Dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data hasil penelitian tersebut dianalisis dengan menggunakan sidik ragam. Kriteria uji dengan sidik ragam sebagai berikut:

Bila $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$, berarti ada perbedaan yang nyata di antara perlakuan.

Bila $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, berarti tidak ada perbedaan yang nyata di antara perlakuan.

Apabila terdapat perbedaan yang nyata dalam pengujian sidik ragam akan dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% untuk membandingkan antar perlakuan tersebut (Kusriningrum, 1989).