

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini merupakan penelitian *True experimental* dengan desain penelitian hanya menggunakan *Post Test Control Group Design*. Pengumpulan data dilakukan di akhir setelah perlakuan, baik dari kelompok eksperimen maupun kelompok kontrol. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) untuk mengetahui perbedaan suhu kulit pada fase inflamasi dengan diberikan sediaan segar getah lidah buaya (*Aloe vera*) dibandingkan dengan krim *silver sulfadiazine* 1%. Pembagian kelompok dibagi menjadi satu kelompok perlakuan, dan satu kelompok kontrol dengan tehnik acak atau *simple random sampling*. Satu kelompok perlakuan yaitu kelompok yang diberikan sediaan segar getah lidah buaya (*Aloe vera*), sedangkan satu kelompok yang lain sebagai kelompok kontrol menggunakan krim *silver sulfadiazine* 1%.

4.2 Sampel

4.2.1 Kriteria Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar karena memiliki persamaan filogenik dengan manusia dan juga memiliki sifat-sifat dan respon biologis yang mendekati manusia. Pada proses penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Sehingga, untuk menghindari faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka,

maka ditentukanlah kriteria inklusi agar sampel menjadi homogen. Adapun kriteria inklusi tersebut antara lain :

- a. Jenis tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar
- b. Jenis kelamin tikus adalah jantan
- c. Usia pada tikus 2 sampai 2,5 bulan yang merupakan usia pertumbuhan, karena proliferasi sel pada usia pertumbuhan lebih cepat, sehingga akan mampu dalam mendukung penyembuhan luka.
- d. Berat tikus antara 150-250 gram
- e. Makanan dan minuman yang diberikan dengan jumlah dan jenis yang sama
- f. Kondisi tikus sehat, yang ditandai dengan pergerakan yang aktif, jinak, berbulu licin, mengkilat dan bersih, memiliki bulu yang tebal dan tidak kasar, badan tegap dan tidak kerempeng, tidak ada luka, memiliki mata yang jernih dan baik, tidak mengetahuarkan lendir/ nanah/ darah dari mata atau telinga, tidak terlalu banyak ludah, tidak mencret dan pernapasannya tenang.
- g. Tidak mendapatkan riwayat pengobatan sebelumnya
- h. Masing-masing tikus tersebut ditempatkan pada kandang yang berukuran sama yang alasnya diberikan sekam. Sekam diganti setiap 3 hari sekali agar tetap kering dan menghindari kelembaban. Satu kandang akan ditempati oleh satu tikus saja, agar tikus tidak berekelahi dan menimbulkan luka baru.
- i. Dilakukan aklimatisasi selama 14 hari di laboratorium Laboratorium Faal FKUB.

4.2.2 Besar Sampel

Pada penelitian ini, sampel dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu satu kelompok mendapatkan perlakuan yang dirawat dengan menggunakan sediaan

segar getah lidah buaya (*Aloe vera*), dan satu kelompok yang lain dirawat dengan menggunakan krim SSD 1%. Jumlah objek penelitian tiap kelompok dihitung dengan rumus :

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

Keterangan :

P : Jumlah perlakuan

N : Banyaknya sampel tiap kelompok perlakuan

Penelitian ini menggunakan dua kelompok, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan dalam satu kelompok adalah :

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

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 15+2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 17/2$$

$$n \geq 8,5 \approx 9$$

Jadi, penelitian ini membutuhkan jumlah sampel sebanyak 9 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Sehingga total jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 18 ekor tikus. Namun, untuk menghindari apabila ada kemungkinan sampel yang digunakan mati, maka jumlah total tikus yang



dibutuhkan adalah sebanyak 20 ekor. Pembagian kelompok dilakukan dengan cara *simple random sampling*.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independen

Variabel Independen dalam penelitian ini adalah sediaan segar ekstrak getah lidah buaya (*Aloe vera*).

4.3.2 Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah perbedaan suhu kulit sekitar luka pada fase inflamasi.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi /Ilmu Faal FKUB pada tanggal 3-24 Februari 2015.

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Hewan Coba

Prinsip yang harus dilakukan dalam memilih hewan coba yaitu harus semirip mungkin dengan kondisi manusia, seperti dalam hal absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi terhadap senyawa uji. Prinsip ini dilakukan untuk meminimalisir perubahan respon antar jenis dan dalam satu hewan uji terhadap efek senyawa uji. Pada umumnya, hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus, mencit, kelinci, anjing, kucing serta kera. Dalam percobaan yang dilakukan ini, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi 2 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Umur tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 sampai 2,5

bulan dengan berat 150 sampai 250 gram. Dengan menggunakan tikus dengan kriteria tersebut, akan diperoleh beberapa keuntungan, yaitu memiliki nafsu makan yang kuat dan masih dalam taraf pertumbuhan yang optimal, sedangkan kekurangannya adalah berat badannya yang relatif belum stabil dan sering menunjukkan fluktuatif. Tikus putih jantan lebih baik dari tikus putih betina dari segi hormonal, karena tikus betina mengalami masa esterus dan masa bunting.

4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA

Alat dan Bahan (Gayline *et al.*,2000) :

• Pisau cukur dan gagangnya	1 buah
• Tikus jantan	20 ekor
• Penggaris	1 buah
• Sarung tangan steril	1 pasang
• Bengkok	1 buah
• Kom steril	2 buah
• Perlak	1 buah
• Air panas suhu 98°C	700 ml
• Jas lab	1 buah
• Gunting plester	1 buah
• Pinset anatomis	2 buah
• Obat anestesi (Lidokain)	20 ampul
• Normal Saline 0,9%	1 botol
• Spuit + jarum	20 buah
• Kassa steril	60 buah
• Kassa + NS 0,9%	24 buah
• Alkohol swab	24 buah

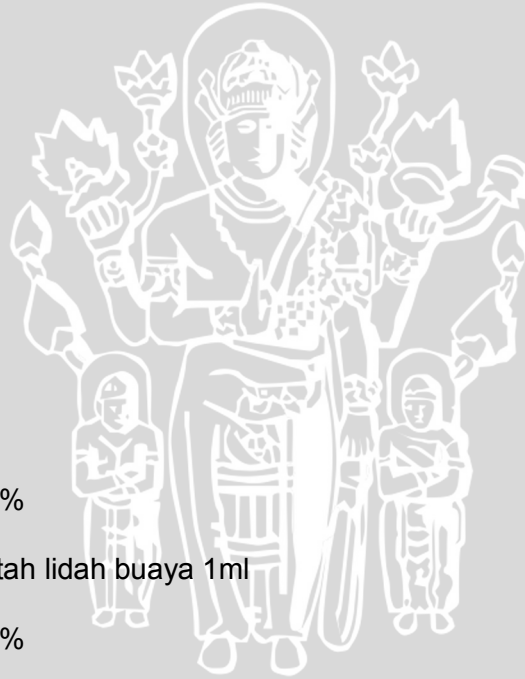


- Arloji 1 buah
- Balok (styrofoam) berbungkus kassa 20 buah

4.5.3 Alat dan Bahan Perawatan Luka Bakar Derajat IIA

Alat dan Bahan (Gayline *et al.*, 2000) :

- Sarung tangan steril 1 pasang
- Sarung tangan bersih 1 pasang
- Bak instrumen kecil 1 buah
- Pinset anatomis 2 buah
- Kom steril 2 buah
- Kassa steril 20 buah
- Kassa + NS 0,9% 20 buah
- Bengkok 1 buah
- Perlak/alas 3 lembar
- Plester 1 roll
- Gunting plester 1 buah
- Normal Saline 0,9% 1 botol
- Sediaan segar getah lidah buaya 1ml 1 spuit
- Normal Saline 0,9% 1 spuit
- Korentang dan tempatnya 1 buah
- Tas plastik pembuang sampah 1 buah
- Aquades 1 botol
- Krim *silver sulfadiazine* 1% 1 buah
- Lidi cotton steril 20 buah



4.5.4 Alat dan Bahan Pengambilan Sediaan Segar Getah Lidah Buaya

- Daun lidah buaya ukuran sedang 3 buah
- Tromol steril 1 buah
- Comb steril 1 buah
- Sendok steril 1 buah
- Sarung tangan steril 1 pasang
- Sabun antiseptik 1 botol

4.5.5 Alat dan Bahan Pengukuran Suhu Kulit

- *Thermometer infrared* merk *SMART SENSOR AR320®* 1 buah
- Penggaris 1 buah



Gambar 4.1 *Thermometer infrared* merk *SMART SENSOR AR320®*

(Anonymous,2014)

4.5.6 Pemeliharaan dan Penimbangan Tikus

Alat dan bahan yang diperlukan untuk pemeliharaan dan penimbangan tikus adalah sebagai berikut (Desita,2014) :

- Kandang/bak tikus
- Penutup kandang dari anyaman kawat
- Botol air untuk minum
- Makanan tikus
- Timbangan sartorius
- Sekam
- Alas tidur
- Nomor kandang

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No.	Variabel penelitian	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Luka Bakar Derajat IIA	Luka bakar yang dibuat seluas 2x2cm dengan balok (<i>styrofoam</i>) yang dibalut kassa yang sebelumnya dicelupkan pada air mendidih 98°C dengan kedalaman epidermis hingga terbentuk bulla setelah 6-8 jam (Gaylene,2000).	-	-

2.	Sediaan segar getah lidah buaya	Getah lidah buaya yang didapatkan langsung dari daun lidah buaya dengan tetap menggunakan prinsip bersih. Getah lidah buaya dikeruk dengan menggunakan sendok steril dan kemudian diletakkan di dalam comb steril.	ml	Nominal
3.	Perawatan luka bakar derajat IIA menggunakan sediaan segar getah lidah buaya	Perawatan luka dilakukan hingga luka sembuh. Perawatan pada luka bakar derajat IIA ini dilakukan dengan cara memberikan sediaan segar getah lidah buaya dengan menggunakan swab lidi cotton steril pada permukaan luka. Kemudian luka ditutup dengan kassa steril dan diplester. Masing-masing kelompok dirawat 1 kali sehari hingga hari ke 5 hingga fase inflamasi berakhir (Gruendemann,2005).	-	Nominal
4.	Perawatan luka bakar derajat IIA menggunakan <i>silver sulfadiazine</i> 1%	Perawatan luka dilakukan hingga luka sembuh. Perawatan pada luka bakar derajat IIA pada kelompok kontrol dengan cara memberikan krim <i>silver sulfadiazine</i> 1% dengan menggunakan swab lidi cotton steril pada permukaan luka. Kemudian	-	Nominal

		luka ditutup dengan kassa steril dan diplester. Masing-masing kelompok dirawat 1 kali sehari hingga hari ke 5 hingga fase inflamasi berakhir (Gruendemann,2005).		
5.	Suhu kulit pada fase inflamasi	Merupakan suhu yang diukur dari permukaan kulit di sekitar area luka yang diberikan perawatan dengan menggunakan SSD 1% dan sediaan segar getah lidah buaya. Pengukuran suhu ini menggunakan <i>thermometer infrared</i> merek <i>SMART SENSOR® AR320</i> dengan menggunakan 2 sisi tepi luka kanan dan kiri, kemudian dilakukan rata-rata. Fase inflamasi berlangsung mulai dari terdapat perlukaan hingga hari ke-5. Pada penelitian ini akan diukur suhu pada area eritema sekitar luka hingga hari ke-5 untuk menentukan berapa lama waktu yang dibutuhkan berakhirnya fase inflamasi pada masing-masing luka pada sampel. Diharapkan akan terdapat penurunan suhu pada area eritema	Celcius	Rasio

		sekitar luka hingga suhu normal tubuh tercapai (36,5-37 ⁰ C) sehingga dapat diindikasikan berakhirnya fase inflamasi.		
--	--	--	--	--

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pengambilan Sediaan Segar Getah Lidah Buaya

Pengambilan getah lidah buaya dilakukan dengan mengambil sediaan segar. Hal ini dikarenakan bahwa efektifitas getah lidah buaya dalam menyembuhkan luka akan berkurang sebesar 40% apabila dibiarkan dalam udara terbuka (Cobble,1975). Oleh sebab itu, pengambilan getah lidah buaya harus dilakukan sesegera mungkin namun tetap menggunakan prinsip steril. Adapun langkah-langkah untuk mengambil sediaan getah lidah buaya adalah sebagai berikut :

- Cuci tangan
- Potong pangkal daun lidah buaya dari batangnya.
- Cuci bersih daun lidah buaya yang telah dipotong dengan menggunakan sabun antiseptik.
- Letakkan daun lidah buaya yang telah dicuci tadi di dalam tromol steril.
- Pasang sarung stangan steril
- Potong kulit lidah buaya dengan menggunakan *blade* steril, buang kulit lidah buaya pada plastik sampah.

- Lakukan pengerukan getah lidah buaya dengan menggunakan sendok steril.
- Tadahkan getah lidah buaya yang keluar ke dalam comb steril.
- Ulangi langkah-langkah diatas hingga getah yang didapatkan cukup (± 30 ml).
- Tutup comb dan rapikan alat
- Cuci tangan

4.7.2 Pembagian Kelompok Tikus

Pembagian kelompok tikus dilakukan pada jenis tikus yang telah memenuhi kriteria sebagaimana telah disebutkan sebelumnya. Pembagian kelompok tikus dilakukan secara *simple random sampling*. Tikus dibagi menjadi dua kelompok, yaitu satu kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Satu kelompok perlakuan diberikan perawatan luka dengan menggunakan getah lidah buaya, sedangkan pada kelompok kontrol diberikan perawatan luka menggunakan *silver sulfadiazine* 1%.

4.7.3 Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA

Cara kerja (Gayline *et al.*,2000) :

Langkah-langkah tindakan untuk membuat luka derajat IIA pada hewan coba adalah sebagai berikut :

- Tentukan terlebih dahulu daerah mana yang akan dibuat luka bakar, yaitu punggung kanan atas.
- Bersihkan bulu dan cukur area tersebut sampai jarak 3 cm dari area yang akan dibuat luka bakar derajat IIA.

- Pasang perlak/alas di bagian bawah tubuh tikus yang akan dibuat luka bakar.
- Buka bak instrumen steril, cuci tangan dan pakai sarung tangan steril.
- Desinfeksi area kulit yang akan dibuat luka bakar derajat IIA dengan alkohol swab, tunggu hingga kering.
- Lakukan anestesi pada area kulit yang akan dibuat luka bakar drajat IIA dengan dosis lidokain 0,5-1 cc.
- Lipat kassa sesuai dengan luas luka bakar dan bentuk sesuai cetakan.
- Pasang kassa di atas balok (styrofoam) berukuran 2x2cm dan bungkus balok tersebut dengan kassa.
- Celupkan balok yang berlapis dan bungkus kassa dengan air panas dengan suhu 98°C selama 3 menit.
- Tempelkan balok yang bungkus kassa pada hewan coba selama 30 detik.
- Tunggu sampai terbentuk bula selama 30 detik.
- Angkat kassa lalu kompres dengan Normal Saline 0,9% selama 1 menit untuk mencegah *combustio*.
- Berikan perawatan pada area luka yang terbentuk sesuai prosedur rawat luka, yaitu keringkan dan tutup luka kemudian plester.
- Lepas sarung tangan.
- Rapihan alat dan cuci tangan.

4.7.4 Pengukuran Suhu Kulit dengan *Thermometer Infrared*

Thermometer infrared berfungsi untuk mengetahui temperatur kerja dari sebuah benda atau bahan yang ingin kita ketahui tingkat thermal/panasnya., sehingga dapat mendiagnosa atau menganalisa secara dini apabila terjadi penyimpangan pada komponen yang diukur tadi (Sewatama,2010).

Adapun langkah-langkah untuk mengukur suhu kulit dengan menggunakan thermometer infrared adalah sebagai berikut :

- Pegang handle thermometer infrared.
- Tujukan lampu infra red pada area kulit sekitar luka secara fokus dengan jarak lampu dengan kulit sekitar 10 cm.
- Tekan trigger.
- Hasil pengukuran suhu kulit yang diukur akan muncul di display selama 7 detik setelah tombol trigger di release/ lepas.
- Catat hasil pengukuran suhu.

4.7.5 Perawatan Luka Bakar Derajat IIA dengan *Silver sulfadiazine* 1%

Cara kerja :

1. Perawatan Luka Bakar Derajat IIA menggunakan krim *silver sulfadiazine* 1%
- Cuci tangan
 - Tempatkan perlak yang dilapisi kain di bawah luka yang akan dirawat.
 - Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan dalam pelaksanaan tindakan perawatan luka.
 - Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
 - Pakai sarung tangan steril
 - Lipat ukuran kassa sesuai dengan besarnya luka
 - Bersihkan luka dengan NS 0,9%.
 - Ambil lidi cotton dan ambil sediaan krim *silver sulfadiazine* 1%.
 - Oleskan ke permukaan luka secara hati-hati, kemudian buang lidi ke plastik tempat sampah
 - Tutup luka dengan kassa steril dan plester
 - Bersihkan peralatan

- Lepas sarung tangan dan buang ke plastik tempat sampah.

4.7.6 Perawatan Luka Bakar Derajat IIA dengan Sediaan Segar Getah Lidah Buaya

Perawatan luka dengan menggunakan sediaan segar getah lidah buaya (*Aloe vera*) adalah sebagai berikut :

- Cuci tangan
- Tempatkan perlek yang dilapisi kain di bawah luka yang akan dirawat.
- Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan dalam pelaksanaan tindakan perawatan luka.
- Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
- Pakai sarung tangan steril
- Lipat ukuran kassa sesuai dengan besarnya luka
- Bersihkan luka dengan NS 0,9%.
- Ambil lidi cotton dan ambil 1 ml sediaan segar getah lidah buaya (*Aloe vera*).
- Oleskan ke permukaan luka secara hati-hati, kemudian buang lidi ke plastik tempat sampah
- Tutup luka dengan kassa steril dan plester
- Bersihkan peralatan
- Lepas sarung tangan dan buang ke plastik tempat sampah.

4.7.7 Teknik Sterilisasi

Set peralatan rawat luka dsterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 160-170°C. Teknik sterilisasi menggunakan teknik panas kering untuk peralatan logam. Sedangkan untuk peralatan non logam menggunakan

teknik ionisasi. Sebelum memasukkan ke dalam autoklaf, peralatan logam direndam pada cairan savlon yang telah diencerkan dengan NS 0,9% dengan perbandingan 1:9. Peredaman dilakukan selama 30 menit, kemudian dikeringkan dengan menggunakan tissue dan memasukkan ke dalam autoklaf bagian bawah dan untuk peralatan non logam diletakkan pada bagian atas autoklaf.

4.7.8 Prosedur Pemeliharaan dan Penimbangan Tikus

Prosedur pemeliharaan dan penimbangan tikus yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1) Penandaan tikus

Untuk mencegah kesalahan dalam penilaian penyembuhan luka pada masing-masing tikus, maka masing-masing tikus harus diberi tanda yang tidak mudah hilang. Sehingga, penandaan dilakukan dengan cara memberi nama jenis perlakuan pada kandang tikus dalam penelitian ini.

2) Tempat perawatan tikus

Delam penelitian ini kandang yang digunakan untuk perawatan tikus terbuat dari bahan plastik yang tebal, karena bahan ini cukup kuat, tidak mudah rusak, dan mudah untuk dibersihkan. Kandang dilengkapi dengan penutup yang terbuat dari anyaman kawat, agar tikus tidak mudah lepas. Ukuran kandang untuk setiap tikus sama dan masing-masing kandang diberikan sekam. Sekam diganti 3 kali sehari agar tetap kering dan tidak lembab. Satu kandang ditempati oleh satu ekor tikus saja, agar tikus tidak berkelahi dan tidak menimbulkan luka yang baru.

3) Nutrisi tikus

Tikus diberikan makanan dengan jumlah dan frekuensi yang sama setiap hari. Makanan tikus berupa pasir yang dicampur dengan terigu sebanyak 40 gram per hari. Sedangkan untuk minuman tikus diletakkan dalam botol yang berada di dalam kandang. Air minum tikus adalah air matang.

4) Penimbangan tikus

Pengukuran berat badan tikus menggunakan alat penimbang sartorius yang dilakukan sebelum dan selama eksperimen dilakukan.

4.8 Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan setelah perlakuan (*post test*). Setelah dilakukan pembuatan luka bakar derajat IIA, maka diberikan pemberian masing-masing kelompok tikus menggunakan sediaan getah lidah buaya dan silver sulfadiazine. Sebelum luka ditutup dengan kassa, suhu kulit di sekitar area luka diukur dengan thermometer infrared pada hari pertama. Hari kedua, pada saat penggantian balutan kassa, masing-masing diukur suhu kulit di sekitar area luka. Hal ini dilakukan hingga hari ke lima sesuai dengan fase inflamasi yang terjadi setelah perlukaan hingga hari ke lima.

4.9 Analisa Data

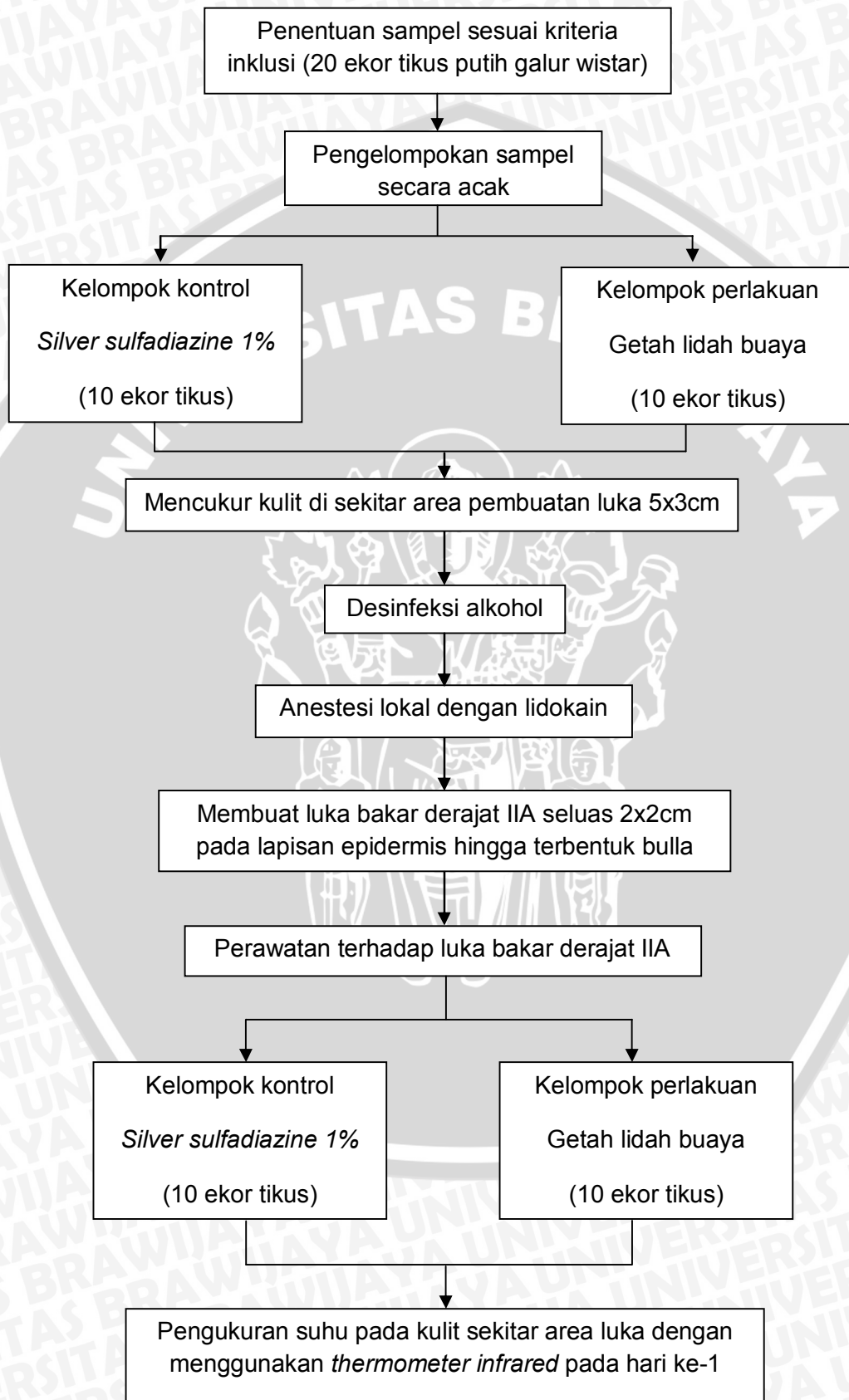
Pada penelitian ini, analisa data yang digunakan adalah *T-test independent* karena adanya kesamaan rata-rata dari dua populasi yang bersifat independen. Analisa data pada penelitian ini menggunakan program *SPSS for Windows*. Tujuan dari Uji *T-test independent* yaitu untuk membandingkan atau membedakan apakah kedua rata-rata tersebut memiliki perbedaan. Hal ini

memiliki manfaat untuk menguji kemampuan generalisasi atau signifikansi hasil dari suatu penelitian yang berupa perbandingan variabel dari rata-rata sampel.

Uji Hipotesis *T-test independent* memiliki beberapa hal yang harus dipenuhi sebelum melakukan pengujian, yaitu :

1. Data harus memiliki distribusi normal yang diuji dengan menggunakan statistik uji Lilliefors (Shapiro-Wilk). Data dikatakan memiliki distribusi normal apabila hasil uji signifikan akan menunjukkan hasil dengan $p\text{-value} > 0,05$.
2. Kedua kelompok harus saling berbeda atau *independent*.
3. Kedua kelompok saling bebas antara satu sama lain.
4. Sejumlah 20 tikus memiliki karakteristik yang homogen.
5. Dua puluh tikus kemudian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok yang diberi perawatan luka *standard* dengan SSD 1% serta kelompok yang diberikan perawatan dengan sediaan segar getah lidah buaya.
6. Peneliti tidak memiliki informasi mengenai ragam populasi dari data kedua kelompok.

4.10 Alur Kerja Penelitian



Mengukur suhu pada kulit sekitar area luka dengan menggunakan *thermometer infrared* pada hari ke-1

Tutup luka dengan balutan

Buka balutan luka
(Pada hari ke 2 hingga ke 5)

Mengukur suhu pada kulit sekitar area luka dengan menggunakan *thermometer infrared* setiap hari hingga hari ke 5

Tutup luka dengan balutan

Bagan 4.2 Alur Kerja Penelitian



4.11 Kode Etik Penelitian

Seorang peneliti harus selalu menghormati dan melindungi kehidupan, kesehatan, kesejahteraan, dan penanganan secara manusiawi, termasuk terhadap hewan coba di dalam dunia penelitian kesehatan. Sehingga, sebelum melakukan penelitian, peneliti melakukan permohonan lolos uji etik (*ethical clearance*) kepada panitia etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Selain mengajukan permohonan lolos uji etik, dalam memanfaatkan hewan percobaan untuk penelitian kesehatan, peneliti juga mempertimbangkan prinsip-prinsip etik penelitian yang merujuk pada 3R, yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement* (Polit dan Hungler, 2004).

1) Replacement

Ada dua alternatif untuk *replacement*, antara lain :

- a) *Relative replacement*, yaitu menggunakan sel, jaringan, atau organ dari hewan vertebrata yang dimatikan secara manusiawi.
- b) *Absolute replacement*, yaitu tidak memerlukan bahan dari hewan, melainkan memanfaatkan galur sel (*cell lines*) atau program komputer.

2) Reduction

Yaitu mengurangi pemanfaatan jumlah hewan percobaan sehingga sesedikit mungkin dengan bantuan ilmu statistik, program komputer, dan teknik-teknik biokimia serta tidak mengurangi penelitian dengan hewan percobaan apabila tidak perlu.

3) *Refinement*

Yaitu mengurangi ketidaknyamanan yang dialami oleh hewan percobaan sebelum, selama, dan setelah penelitian, misalnya dengan pemberian analgesik.

Selain itu, penelitian ini juga harus memenuhi sayarat 5F, yaitu:

1) *Freedom from hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus).

Peneliti memberikan makanan dan air minum yang sesuai dan memadai untuk kesehatan hewan mencakup jumlah dan komposisi nutrisi

2) *Freedom from discomfort* (bebas dari ketidaknyamanan)

Peneliti menyediakan lingkungan yang bersih dan sesuai dengan biologis spesies meliputi cahaya, suhu, dan kelembaban lingkungan serta ukuran kandang.

3) *Freedom from pain, injury, and disease* (bebas dari rasa sakit, trauma, dan penyakit)

Peneliti melakukan pencegahan penyakit, pengobatan, dan meminimalkan/meniadakan rasa sakit, serta pemilihan prosedur dilakukan dengan pertimbangan meminimalkan rasa sakit (non-invasive), penggunaan anestesia sebelum tindakan dan analgesia bila diperlukan, serta dengan metode yang manusiawi dalam rangka untuk meminimalkan bahkan meniadakan penderitaan hewan.

4) *Freedom from fear and distress* (bebas dari ketakutan dan stress jangka panjang)

Memberikan kondisi lingkungan dan perlakuan untuk mencegah/ meminimalkan timbulnya stress terhadap perawatan dan penelitian),

memberikan masa adaptasi dan pengkondisian bagi hewan terhadap prosedur penelitian, lingkungan baru, dan personil.

- 5) *Freedom to express natural behavior* (bebas mengekspresikan tingkah laku alami).

Dengan memberikan ruang dan fasilitas untuk program pengayaan lingkungan (environmental enrichment) yang sesuai dengan karakteristik biologis dan tingkah laku spesies seperti pencarian makan, memberikan sarana untuk kontak sosial bagi species yang bersifat sosial seperti pengandangan yang berdekatan satu dengan yang lain dan memberikan kesempatan bagi hewan coba untuk grooming, mating, dan bermain.

Pada Penelitian ini, peneliti melakukan penelitian terhadap 18 ekor tikus putih galur wistar yang jumlahnya telah dihitung dan disesuaikan dengan jumlah perlakuan. Namun, sebagai tindakan preventif apabila ada sampel tikus yang mati, maka peneliti menambahkan masing-masing 1 ekor tikus pada tiap kelompok perlakuan. Sehingga didapatkan jumlah total 20 ekor tikus putih galur wistar yang digunakan dalam penelitian ini. Sebelum melakukan pembuatan luka bakar derajat IIA, pada tikus diberikan anestesi loka dengan lidokain yang bertujuan untuk mengurangi rasa nyeri pada tikus. Selama proses penyembuhan luka, kemungkinan untuk terjadinya resiko infeksi memang dapat terjadi. Oleh sebab itu, peneliti melakukan inspeksi dan penggantian balutan luka setiap hari untuk mencegah terjadinya infeksi. Namun, apabila terjadi infeksi, maka akan diberikan salep antibiotik topikal untuk mengatasi hal tersebut.

Setelah penelitian selesai dilakukan dan luka pada tikus sembuh, maka setelah itu tikus akan dikembalikan pada habitatnya semula dengan cara

mengembalikan kepada penjual tikus kembali. Karena, pada usia tikus ini masih memungkinkan untuk berkembang biak. Sehingga, tikus tidak akan dimatikan setelah penelitian selesai.

