

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tikus seringkali digunakan dalam penelitian di laboratorium yang berkaitan dengan bidang fisiologi, farmakologi, toksikologi, patologi, histopatologi (Mutiarahmi et al., 2021). Penelitian tentang tikus telah dilakukan selama berabad-abad, dan landasan sejarah penelitian ini dapat ditelusuri kembali ke zaman kuno. Tikus, khususnya tikus wistar laboratorium, telah menjadi subjek populer dalam banyak bidang penelitian, termasuk biologi, farmakologi, kedokteran, dan kesehatan. Salah satu alasan mengapa tikus menjadi subjek penelitian yang umum adalah karena kesamaan genetik mereka dengan manusia. Tikus memiliki sekitar 90% gen manusia yang identik, yang memungkinkan para peneliti untuk mempelajari berbagai penyakit manusia dan mencari obat-obatan baru dengan menggunakan tikus sebagai model eksperimental (Wati, 2024).

Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai model penelitian karena genetiknya yang telah terkarakterisasi dengan baik, kemudahan penanganan, dan kesamaan fisiologis dengan manusia dalam banyak aspek (Percie du Sert et al., 2020). Namun, responsivitas model-model ini terhadap induksi penyakit dan agen terapeutik dapat dipengaruhi oleh status fisiologis dasar dan kesehatan metaboliknya (Kondashevskaja dan Mkhitarov, 2005). Manajemen pemeliharaan yang buruk dapat memicu stres berkepanjangan, yang berdampak langsung pada kesejahteraan tikus laboratorium. Lingkungan yang tidak sesuai, seperti pencahayaan yang berlebihan, suara bising, serta ketidakseimbangan suhu dan kelembaban, dapat menjadi faktor utama pemicu stres (Percie du Sert et al., 2020).

Stres didefinisikan sebagai respons tubuh yang tidak spesifik terhadap rangsangan eksternal atau tuntutan lingkungan di luar kemampuan tubuh untuk mengatasinya. Stres menyebabkan perubahan pada sumbu *neuroendokrin* Limbik-Hipotalamus-Hipofisis-Adrenal (LHPA) dan dapat mengubah data penelitian. Stres berkepanjangan pada tikus laboratorium juga dapat menyebabkan penurunan daya tahan tubuh, meningkatkan risiko infeksi, serta mempengaruhi perilaku dan parameter biokimia. Oleh karena itu, penting bagi laboratorium untuk menerapkan protokol pemeliharaan yang mengutamakan kesejahteraan hewan guna meminimalkan efek negatif stres. (Lee et al., 2023).

Evaluasi kesejahteraan hewan dapat dilakukan melalui parameter perilaku dan biokimia. *Open Field Test* (OFT) merupakan metode yang banyak digunakan untuk menilai perilaku eksplorasi dan tingkat kecemasan pada hewan rodensia. Parameter *Center Time* (CT) dalam OFT mencerminkan waktu yang dihabiskan hewan di area tengah arena, yang merupakan indikator penting tingkat kecemasan. Tikus secara alami menunjukkan perilaku *thigmotaxis*, yaitu kecenderungan untuk berada di area tepi sebagai respons terhadap potensi ancaman. *Center time* yang lebih tinggi mengindikasikan tingkat kecemasan yang lebih rendah dan kondisi kesejahteraan yang lebih baik (Seibenhener dan Wooten, 2015). Hewan yang

mengalami stres kronis cenderung menunjukkan penurunan waktu eksplorasi di area tengah dan peningkatan perilaku *thigmotaxis* (Tran et al., 2023).

Selain parameter perilaku, kondisi fisiologis dapat dilihat dari parameter biokimia seperti *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin yang menjadi indikator penting untuk menilai dampak manajemen pemeliharaan terhadap fungsi ginjal. BUN dan kreatinin merupakan biomarker yang mencerminkan kemampuan filtrasi glomerulus ginjal. Peningkatan kadar BUN dan kreatinin sering dikaitkan dengan gangguan fungsi ginjal, termasuk yang dipicu oleh stres. Stres akibat kondisi pemeliharaan yang tidak sesuai prinsip *Animal welfare* dapat mengaktifkan sumbu *hipotalamus-hipofisis-adrenal* (HPA), meningkatkan produksi kortisol. Hormon kortisol yang berlebihan berpotensi menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah ginjal, mengurangi laju filtrasi glomerulus, dan memicu akumulasi produk metabolik seperti urea dan kreatinin dalam darah (Colville dan Bassert, 2016; Aspinall dan Capello, 2020).

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penulis mengangkat judul "Evaluasi Manajemen Pemeliharaan Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Ditinjau dari Aspek *animal welfare*: Bebas dari Rasa Takut dan Stres". Penelitian ini meneliti pengaruh penerapan aspek *animal welfare* dalam manajemen pemeliharaan hewan laboratorium terhadap perilaku dan parameter biokimia tikus. Integrasi antara evaluasi perilaku dan parameter biokimia ini akan memberikan gambaran komprehensif mengenai dampak holistik manajemen pemeliharaan terhadap kesejahteraan hewan uji. Dengan menerapkan prinsip *animal welfare* secara optimal, diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam peningkatan standar etika dan efektivitas penelitian biomedis yang melibatkan hewan laboratorium.

1.1.1. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh penerapan aspek *animal welfare*, khususnya prinsip bebas dari rasa takut dan stres, dalam manajemen pemeliharaan hewan laboratorium di *Animal Lab* Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin tikus wistar (*Rattus norvegicus*)?
2. Bagaimana pengaruh penerapan aspek *animal welfare*, khususnya prinsip bebas dari rasa takut dan stres, dalam manajemen pemeliharaan hewan laboratorium di *Animal Lab* Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin terhadap respons perilaku tikus wistar (*Rattus norvegicus*) berdasarkan parameter *Open Field Test* (OFT) berupa *center time* (CT)?
3. Bagaimana integrasi parameter fisiologis (BUN dan kreatinin) dan parameter perilaku (*Open Field Test*) dalam menggambarkan penerapan prinsip *animal welfare* bebas dari rasa takut dan stres pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*)?

1.1.2. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh penerapan aspek *animal welfare*, khususnya prinsip bebas dari rasa takut dan stres, dalam manajemen pemeliharaan hewan laboratorium di *Animal Lab* Rumah Sakit Hewan Universitas

Hasanuddin terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin tikus wistar (*Rattus norvegicus*)

2. Untuk mengetahui pengaruh penerapan aspek *animal welfare*, khususnya prinsip bebas dari rasa takut dan stres, dalam manajemen pemeliharaan hewan laboratorium di *Animal Lab* Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin terhadap respons perilaku tikus wistar (*Rattus norvegicus*) berdasarkan parameter *Open Field Test* (OFT) berupa *center time* (CT)
3. Untuk mengetahui integrasi parameter fisiologis (BUN dan kreatinin) dan parameter perilaku (*Open Field Test*) dalam menggambarkan penerapan prinsip *animal welfare* bebas dari rasa takut dan stres pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*)

1.1.3. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Pengembangan Ilmu

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan dan pengetahuan peneliti tentang manajemen pemeliharaan tikus wistar (*rattus novergicus*) ditinjau dari aspek *animal welfare*: bebas dari rasa takut dan stres

2. Manfaat Aplikasi

Melatih kemampuan meneliti dan menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

1.1.4. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, dapat diambil hipotesis penelitian bahwa adanya perubahan BUN, kreatinin dan *Center Time* (CT) pada *Open Field Test* (OFT) tikus wistar (*Rattus novergicus*) terhadap manajemen pemeliharaan hewan laboratorium sesuai aspek *animal welfare*.

1.1.5. Keaslian Penelitian

Sejauh penelusuran pustaka penulis, Publikasi penelitian mengenai “Evaluasi Manajemen Pemeliharaan Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*) Ditinjau Dari Aspek *Animal Welfare*: Bebas Dari Rasa Takut dan Stres”. Belum pernah dilakukan sebelumnya, penelitian yang pernah dilakukan berkaitan dengan penelitian ini adalah penelitian oleh Lee *et al.* (2023) dengan judul “*Stress Evaluation of Mouse Husbandry Environments for Improving Laboratory Animal welfare*”. Namun, pada penelitian ini dibahas mengenai kadar kortisol darah pada hewan lab yang diterapkan manajemen kandang *animal welfare*. Sedangkan pada penelitian kali ini akan melihat *behavior* dari *Center Time* (CT), kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin yang diterapkan manajemen kandang secara *animal welfare*.

1.2. Kajian Pustaka

1.2.1. Tikus wistar (*Rattus novergicus*)

Tikus wistar (*Rattus novergicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan karena hewan ini mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang cepat, memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada

manusia, dan harganya relatif murah (Dewi, 2010). Menurut Sharp dan Villano (2012), tikus wistar diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mammalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Myomorpha</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 1. Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*); A (Mata Merah), B (Hidung Pink), C (Telinga Merah Muda dan Lebar), D (Berbulu putih tebal dan kasar), E (Ekor Panjang dan Tidak Berbulu) (Komang et al, 2014).

Tikus wistar tergolong mamalia kecil karena bobotnya yang kurang dari 5 kg. Memiliki kadar metabolisme tinggi, aktif serta pergerakan tinggi. Kelebihan dari tikus ini karena ukurannya yang kecil sehingga dapat menghindari mangsa. Tikus wistar memiliki berat 200-300 gram. Tikus jantan biasanya lebih besar dari betina. Tikus ini memiliki moncong tumpul, telinga dan mata kecil, kotoran berbentuk kapsul dengan ukuran 2 cm, usia hidup 5-12 bulan, bahkan hingga 3 tahun, dewasa dalam usia 2-3 bulan, jumlah anak tiap kelahiran 8-12 ekor (Dewi, 2010).

1.2.2. Manajemen Pemeliharaan Hewan Laboratorium Sesuai Prinsip *Animal Welfare*

Manajemen pemeliharaan pada hewan coba sebaiknya dalam kondisi nyaman sehingga hasil dari penelitian yang diharapkan dapat tercapai (Mu'nisa et al., 2022). Manajemen pemeliharaan hewan laboratorium harus menerapkan konsep 3R yaitu *Replacement*, *Reduction* dan *Refinement*. *Replacement* sering diartikan sebagai penggunaan sistem tidak hidup sebagai alternatif misalnya pada penggunaan komputer atau manekin. *Reduction* berarti menurunkan jumlah hewan uji coba tanpa mengurangi informasi yang berguna. *Refinement* yaitu perubahan beberapa aspek perlakuan yang berpotensi menimbulkan rasa sakit atau stres jangka panjang (Yurista et al., 2016). Penggunaan hewan coba pada studi Kesehatan telah lama digunakan. Pada satu sisi, penggunaan hewan untuk kepentingan manusia dinilai salah secara moral. Di sisi lain, jika tidak menghapus hewan dari laboratorium akan menghambat pemahaman kita tentang hewan coba

yang dalam kondisi kelaparan, stres dan tidak sehat dapat memengaruhi validitas data penelitian yang akan dihasilkan. Pada manajemen pemeliharaan harus diperhatikan beberapa aspek yaitu sistem perkandangan, nutrisi pakan, serta lingkungan kandang (Mu' nisa *et al.*, 2022).

1.2.2.1. Manajemen Kandang

Menurut Dhana (2012), Salah satu faktor eksternal yaitu manajemen kandang. Kandang tikus harus memenuhi kemudahan saat pembersihan kandang, tempat, serta ekonomis. Kandang harus ideal dan dapat melindungi tikus dari pengaruh lingkungan. Bahan kandang yang bisa digunakan sering yaitu berbahan dasar plastik. Bahan plastik dapat digunakan untuk tikus berukuran kecil. Plastik memiliki keunggulan yaitu ringan, murah, dapat ditumpuk serta pembersihan yang terjangkau. Ukuran kandang menjadi hal yang penting dan perlu diperhitungkan sesuai jumlah tikus. Luas lantai kandang dan tinggi kandang tikus wistar dengan kapasitas 1-4 ekor berdasarkan berat badan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Luas kandang normal tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Dhana, 2012).

Berat badan tikus (gram)	Luas lantai kandang ideal (cm ²) untuk 1-4 ekor tikus wistar	Tinggi Minimal (cm)
Jantan 0 - 149	900	8
Betina 0 - 139		
Jantan 150 - 295	1200	11
Betina 140 - 169		
Jantan 250 - 449	1500	22
Betina 170 - 309		
Jantan 450 - 899	1800	26
Betina 310 – 614		
Jantan > 900	1800	30
Betina > 615		

Alas kandang sebaiknya diberi materi yang dapat menyerap air, dan tidak mengandung senyawa berbahaya atau yang mengganggu penelitian (Mu' nisa *et al.*, 2022). Alas kandang harus diganti secara rutin dan sesegera mungkin jika sudah basah minimal 1-3 kali dalam seminggu (Kasiyani dan Tana, 2020). Jika dibiarkan maka akan menimbulkan bibit penyakit. Salah satu indikator alas kandang harus diganti adalah, terciumnya bau amoniak. Jumlah dalam kandang juga mempengaruhi frekuensi pergantian alas kandang, makin banyak populasi dalam satu kandang, makin sering alas kandang harus diganti. Setidak-tidaknya jika alas kandang diganti seminggu sekali, terutama pada musim dingin atau penghujan, udara dingin, alas kandang akan cepat basah dan lembab sehingga frekuensi penggantianannya lebih sering dalam satu minggu (Mu' nisa *et al.*, 2022).

Bahan yang cocok digunakan sebagai alas kandang seperti sobekan kertas, serutan kayu, sisa gergajian kayu, sekam padi, atau zeolit aktif. Masing-masing bahan tersebut mempunyai keuntungan dan kerugian bila digunakan sebagai alas

kandang pemeliharaan mencit (Mu' nisa *et al.*, 2022). Sterilisasi *bedding* hewan percobaan, termasuk sekam padi jika digunakan sebagai material *bedding*, direkomendasikan untuk mengurangi risiko kontaminasi dan patogen sebelum penggunaan atau pengolahan limbah. Berbagai metode seperti *steam autoclave* atau *ozone disinfection* telah terbukti efektif dalam menginaktivasi sebagian besar patogen dan memungkinkan pengelolaan limbah yang lebih aman dan ramah lingkungan dalam fasilitas hewan laboratorium (Qiao *et al.*, 2022).

1.2.2.2. Manajemen Nutrisi

Pakan tikus wistar harus seimbang agar kesehatan, pertumbuhan dan sistem reproduksi stabil. Pakan tikus yang baik mengandung 18-25% protein, 5-10% karbohidrat, 5-10% lemak, dan 5-7% serat. Vitamin dan mineral merupakan komponen pendukung seperti vitamin A,D,E, dan K serta mineral seperti kalsium, fosfor dan magesium. Konsumsi pakan tikus ialah 10% dari bobot badan (Hau *et al.*, 2011). Air juga harus dikontrol rutin untuk mengurangi kontaminasi. Tikus wistar membutuhkan *intake* air sebanyak 20-30 mL per 100 gram berat badan (Debnath *et al.*, 2024).

1.2.2.3. Manajemen Lingkungan

Pada manajemen lingkungan perlu diperhatikan beberapa aspek sesuai kesejahteraan hewan laboratorium. Kondisi kandang harus dibuat dari bahan yang memungkinkan sanitasi yang efektif dan tahan terhadap kerusakan akibat penggunaan dan manipulasi peralatan yang tidak normal. Lingkungan ruangan harus terkontrol dengan baik, untuk memastikan kesejahteraan hewan dan membatasi jumlah tikus dalam kandang sesuai kebutuhan percobaan. Tikus mampu beradaptasi dengan kondisi suhu dan kelembaban ruangan. Pada tikus suhu berkisar 22-24°C dengan kelembaban 40-60% biasanya dianggap sesuai. Cahaya juga berpengaruh terhadap perilaku fisiologis tikus. Paparan cahaya normal pada tikus minimal 12-14 jam dan dalam keadaan gelap sekitar 10-12 jam karena tikus sangat rentan terkena fotik renopati. Tindakan pencegahan manajemen seperti tidak meletakkan kandang terbuka di rak atas rak tinggi harus dipertimbangkan. Pencegahan dan pengendalian penyakit menular sebagian merupakan fungsi dari lokasi, ukuran, dan kondisi lingkungan ruang kandang tikus. Strategi untuk membatasi perpindahan patogen akan bervariasi dan dampak potensial yang mungkin ditimbulkan oleh agen infeksius pada kelompok tikus tertentu dan penelitian tempat agen tersebut digunakan (Debnath *et al.*, 2024).

1.2.3. Blood Urea Nitrogen (BUN) dan Kreatinin

Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kreatinin dapat menjadi indikator penting untuk menilai dampak manajemen pemeliharaan terhadap fungsi ginjal tikus. BUN dan kreatinin merupakan biomarker yang mencerminkan kemampuan filtrasi glomerulus ginjal. Peningkatan kadar BUN dan kreatinin sering dikaitkan dengan gangguan fungsi ginjal, termasuk yang dipicu oleh stres. Stres akibat kondisi pemeliharaan yang tidak sesuai prinsip *Animal welfare* (seperti manajemen kandang berlebih, nutrisi tidak seimbang, atau paparan lingkungan ekstrem) dapat mengaktifasi sumbu *hipotalamus-hipofisis-adrenal* (HPA), meningkatkan produksi

kortisol. Hormon kortisol yang berlebihan berpotensi menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah ginjal, mengurangi laju filtrasi glomerulus, dan memicu akumulasi produk metabolik seperti urea dan kreatinin dalam darah (Colville dan Bassert, 2016; Aspinall dan Capello, 2020).

1.2.4 Open Field Test (OFT)

Open Field Test (OFT) merupakan metode *behavioral assessment* yang banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas lokomotor, perilaku eksplorasi, dan tingkat kecemasan pada hewan rodensia. OFT dilakukan dengan menempatkan hewan dalam arena berbentuk kotak atau lingkaran yang terbuka dan terang, kemudian mengamati pola pergerakan dan perilaku hewan selama periode waktu tertentu, biasanya 5-10 menit. Metode ini telah menjadi standar dalam penelitian neurosains, farmakologi perilaku, dan evaluasi kesejahteraan hewan laboratorium (Gould et al., 2009; Huzard et al., 2020).

Center Time (CT) didefinisikan sebagai durasi waktu yang dihabiskan hewan di zona tengah arena OFT, yang secara umum dianggap sebagai area yang lebih terbuka dan berisiko tinggi dalam perspektif hewan. Tikus secara naluriah menunjukkan perilaku *thigmotaxis*, yaitu kecenderungan untuk berada dekat dengan dinding atau tepi arena sebagai strategi defensif terhadap potensi ancaman predator. Perilaku ini merupakan respons adaptif yang telah berkembang secara evolusioner untuk meningkatkan *survival rate* dalam lingkungan alami (Gould et al., 2009). Oleh karena itu, hewan yang mengalami tingkat kecemasan tinggi akan menghabiskan lebih banyak waktu di area perifer dan secara aktif menghindari area tengah. Sebaliknya, *center time* yang lebih tinggi mengindikasikan tingkat kecemasan yang lebih rendah, dan kondisi emosional yang lebih stabil (Huzard et al., 2020).

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2024 di Animal Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk melihat behavior dan kadar bun kreatinin tikus wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap penerapan aspek animasi welfare dalam manajemen pemeliharaan hewan laboratorium di *Animal Lab* Rumah sakit hewan Universitas Hasanuddin. Penelitian ini juga termasuk dalam penelitian deskriptif kuantitatif, karena memperlihatkan data behavior dan kadar BUN kreatinin tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

2.3. Materi Penelitian

2.3.1. Populasi Penelitian

Alokasi sampel penelitian menggunakan *Simple Random Sampling*. Sampel diambil dari populasi tikus wistar dan besar sampel ditentukan berdasarkan rumus :

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

Keterangan:

n: jumlah sampel

t: jumlah kelompok/perlakuan

Dengan menggunakan rumus di atas, maka dapat diperoleh jumlah sampel perkelompok, yaitu:

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

$$(n-1)(8-1) \geq 15$$

$$(7n-7) \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

$$n \approx 3$$

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini mengacu pada Prinsip *reduction* dalam konsep 3R menekankan bahwa jumlah hewan uji harus dibatasi pada tingkat minimum yang masih mampu menghasilkan data yang valid secara ilmiah. Menurut Herrmann dan Flecknell (2019), pengurangan jumlah hewan diperbolehkan dan dianjurkan apabila desain penelitian dibuat efisien dan setiap hewan dimanfaatkan secara maksimal untuk memperoleh informasi yang relevan. Salah satu cara paling efektif untuk mencapai hal tersebut adalah dengan mengukur beberapa parameter dari individu hewan yang sama, yang dikenal sebagai *multiple endpoints*. Berdasarkan pertimbangan tersebut, jumlah sampel per kelompok ditetapkan $n=2$ karena penelitian ini bersifat evaluatif dan eksploratif dalam menilai kondisi manajemen pemeliharaan tikus wistar berdasarkan aspek animal welfare.

Penggunaan uji *Kruskal–Wallis* sebagai analisis statistik non-parametrik dipandang sesuai, mengingat uji ini secara metodologis dapat digunakan pada jumlah sampel kecil (minimal 2 sampel per kelompok) dan tidak mensyaratkan distribusi data normal. Hasil analisis statistik dalam penelitian ini diinterpretasikan secara hati-hati sebagai pendukung analisis deskriptif untuk melihat kecenderungan perbedaan antar kelompok, bukan sebagai dasar penarikan kesimpulan inferensial atau kausal, sehingga tetap sejalan dengan prinsip *reduction* dalam konsep 3R.

Tabel 2. Pengelompokan tikus wistar (*Rattus norvegicus*)

Kelompok	Treatment		
	Kandang	Lingkungan	Nutrisi
1	++	*	##
2	++	*	#
3	++	**	##
4	++	**	#
5	+	**	#
6	+	**	##
7	+	*	#
8	+	*	##

Keterangan :

Kandang :

- 2 ekor , sekam steril (++)
- 4 ekor, sekam tidak steril (+)

Lingkungan :

- Suhu : 10-15°C ; Kelembaban : < 40% ; Pencahayaan sepanjang hari (*)
- Suhu : 22-24°C ; Kelembaban : 40-60% ; Pencahayaan 12 jam siang dan 12 jam malam (**)

Nutrisi :

- Diberi pakan 2x sehari (##)
- Diberi pakan 1x sehari (#)

2.3.2. Peralatan yang diperlukan

Aluminium foil (Clinpage), *autoclave* (Coremedix), *centrifuge*, *chemical analyzer* (Petro C-400), *cover glass* (Onelab), *eppendorf* (Onemed), *higrotermometer* (HCT-1), kandang tikus 40 cm² (40 × 31 × 13), mikropipet (*Eppendorf*), mikroskop (*Optilab*), *object glass* (One lab), pipet tetes (*Onelab*), *red vacutainer* (BD vacutainer), *sputit* (Onemed), tempat makan tikus (*Chiro plate*), timbangan digital (*samono*), Tempat minum (*Sweet Bootle*), dan saringan.

2.3.3. Bahan yang diperlukan

Dua puluh empat ekor tikus wistar, pakan, *ketamine*, *xylazine*, standar, sekam, air, alkohol (*Onemed*), akuades (*Onelab*), dan tisu (*Nice*).

2.4. Prosedur Penelitian

2.4.1. Pemeliharaan Hewan Uji Coba

Sebelum memulai percobaan, tikus diadaptasi di dalam kandang selama 7 hari untuk penyeragaman cara hidup dan makanannya. Tiap tikus dipisah dan

ditempatkan di kandangnya sendiri. Kesehatan tikus dipantau tiap harinya dan berat badan tikus ditimbang diakhir minggu. Tikus ditempatkan secara individual dalam kandangnya masing-masing dan diberikan pakan standar serta air minum diukur setiap hari.

2.4.2. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian membandingkan aspek pengaturan kandang, lingkungan dan nutrisi pada hewan uji coba. Pada kandang disiapkan tempat box plastik berukuran 40 x 31x 13 cm untuk tempat hewan uji coba. Sekam dibagi menjadi 2 yaitu sekam steril dan non-steril. Sekam sebanyak 40gr/ tikus pemberian sekam diberikan berdasarkan luas kandang pemeliharaan dengan prinsip alas kandang telah tertutup oleh sekam secara merata. Pada manajemen lingkungan digunakan 2 lingkungan berbeda. Lingkungan pertama diatur dengan suhu 10-15°C dengan kelembaban <40°C sedangkan lingkungan kedua dengan suhu 22-24 °C dengan kelembaban 40-60%. Pada manajemen nutrisi disiapkan pakan 10% bobot badan tikus yang diberikan sesuai pengelompokan (Hau et al., 2011).

2.4.3. BUN dan Kreatinin

Uji ini menggunakan sampel serum dimana darah yang telah dikoleksi sebanyak 3 ml per tikus akan di homogenkan menggunakan *centrifuge dengan* kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan dipisahkan serumnya lalu dilakukan pengujian bun kreatinin.

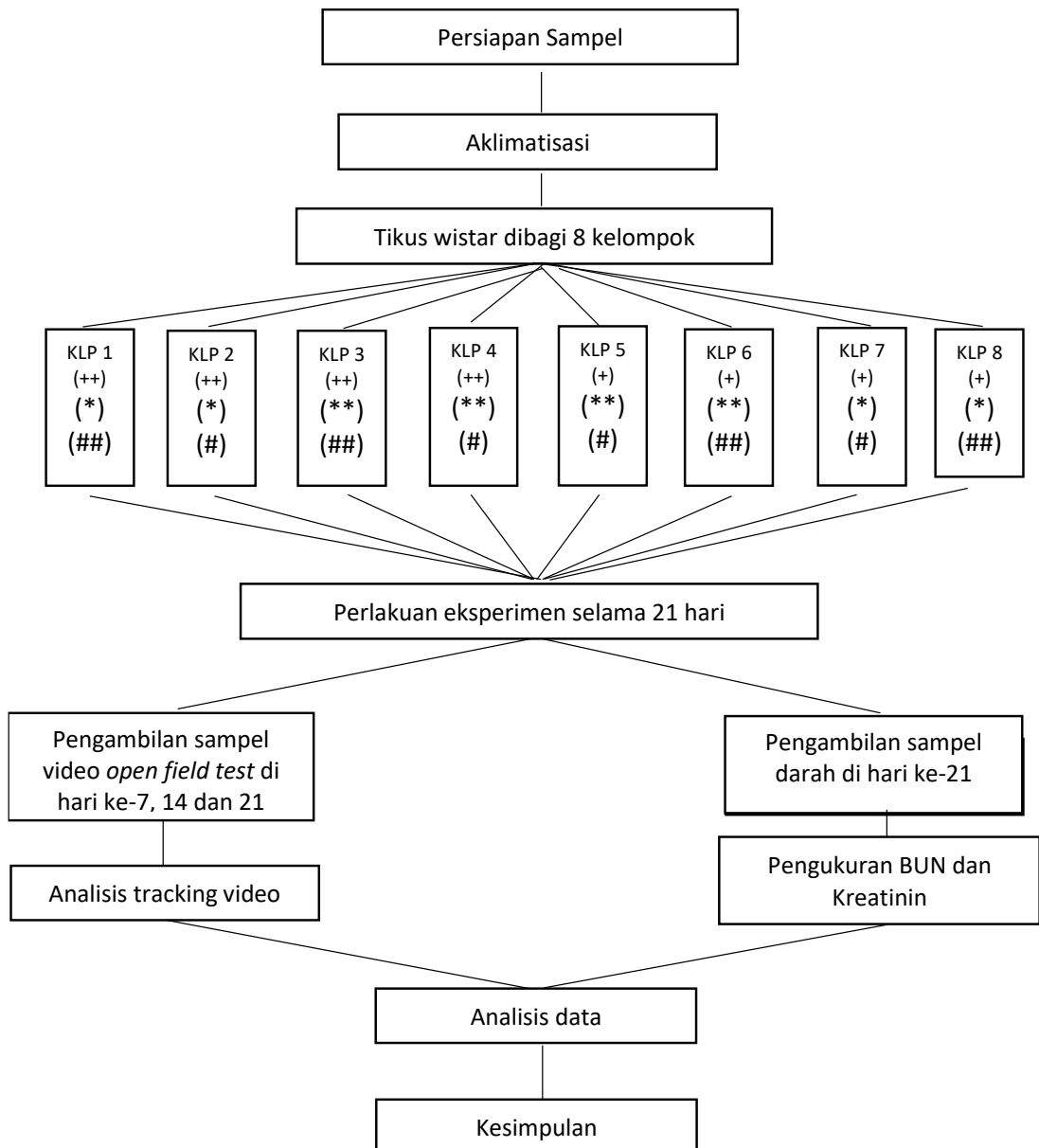
2.4.4. Uji Behavior

Uji *behavior* dilakukan secara *Open Field Test* (OFT) dengan *analisis Center Time* (CT) menggunakan software *toxtrac v 1.1* dimana tikus akan didokumentasi secara individu selama 10 menit. Uji ini dilakukan seminggu sekali dan dianalisis secara kuantitatif setiap minggunya.

2.5. Analisis Data

Analisis data dianalisis secara deskriptif kuantitatif dengan menggunakan *kruskal wallis*, *mann-whitney test* untuk analisis setiap variabel serta regresi linear berganda untuk menganalisa pengaruh setiap faktor dan variabel dengan program IBM SPSS® 25. Serta analisis video *center time* OFT menggunakan *software toxtrac v1.1*.

2.6. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian