

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Data epidemiologi selama dua dekade (2000-2020) dalam penelitian Cojocar et al. (2021), ditemukan bahwa dari 4.626 kasus trauma pada hewan, sebanyak 21,11% atau 975 kasus merupakan luka terbuka. Angka ini menempatkan luka terbuka sebagai jenis cedera traumatis kedua yang paling sering terjadi setelah fraktur (Cojocar et al., 2021). Dalam lingkup trauma tersebut, cedera akibat benda tumpul ditemukan jauh lebih sering terjadi pada hewan dibandingkan dengan luka akibat benda tajam. Hal ini sejalan dengan penelitian de Siqueira et al. (2016) terhadap 271 kasus kriminal yang terjadi pada hewan, menunjukkan bahwa 52% di antaranya merupakan trauma tumpul.

Tingginya angka kejadian ini disebabkan oleh karakteristik permukaan tubuh mamalia, meskipun dirancang untuk menahan berbagai macam kekuatan yang terjadi, mulai dari kontak secara sadar hingga benturan tiba-tiba. Dalam beberapa kasus, energi benturan dapat melebihi daya tahan dan elastisitas jaringan, maka terjadi kerusakan struktural yang terlihat sebagai cedera traumatis (Ressel et al., 2016). Luka akan mengganggu kesejahteraan hewan, mengurangi efisiensi mobilitas hewan, dan membuat hewan rentan terhadap penyakit (Teferi et al., 2020).

Laserasi menjadi jenis luka yang umum terjadi pada hewan, sebagai akibat dari kegagalan jaringan tubuh menahan tekanan. Secara patofisiologis, laserasi terjadi akibat adanya tarikan atau tekanan yang melampaui batas elastisitas kulit. Lokasi laserasi dapat menunjukkan bentuk benda yang menghantam. Daerah tubuh dengan tonjolan tulang di bawah kulit, laserasi sering disebabkan oleh hantaman benda tumpul, sementara di daerah tubuh dengan banyak otot atau jaringan adiposa, laserasi lebih sering disebabkan oleh benda tajam (Ressel et al., 2016).

Setelah terluka, tubuh secara alami memberi respon berupa proses regenerasi untuk memperbaiki kerusakan (Musyaropah dan Supriyatna, 2023). Proses penyembuhan luka secara umum dibagi menjadi empat stadium, yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* (Lomban et al., 2020). Apabila salah satu proses ini terganggu, maka penyembuhan luka tidak bisa berlanjut ke fase berikutnya (Mufimah et al. 2018).

Masalah penyembuhan dan pengobatan luka masih menjadi masalah paling mendesak dalam kedokteran hewan saat ini. Perlunya penggunaan obat yang tidak hanya mempercepat penyembuhan luka, juga perlu aman bagi lingkungan (Kovalyova et al., 2021). Seiring teknologi berkembang dalam bidang ilmu kesehatan, kian hari ketertarikan terhadap obat herbal sangat diminati (Mufimah et al., 2018). Penggunaan obat tradisional dalam penyembuhan luka telah menjadi bagian dari budaya di Indonesia, karena dianggap memiliki risiko efek samping yang lebih sedikit dan lebih aman (Sari et al., 2023). Indonesia merupakan negara yang kaya akan bahan alam terutama tanaman yang memiliki potensi sebagai obat herbal (Musyaropah dan Supriyatna, 2023).

Salah satu tanaman yang diyakini memiliki banyak manfaat dan telah banyak digunakan sebagai obat antiinflamasi adalah daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) termasuk dalam famili *Crassulaceae* (Megawati dan Oktarlina, 2023). Daun cocor bebek mengandung senyawa fenolik, terutama kuersetin yang merupakan flavonoid utama pada tanaman ini, diketahui memiliki manfaat antiinflamasi sebesar 51,27% (Reynaldi dan Yani, 2021). Senyawa fenolik cenderung larut air dan umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida (Mahardani dan Yuanita, 2021).

Aktivitas antioksidan fenolik dan glikosida steroid mampu meminimalkan ukuran daerah yang cedera dan edema di sekitar sayatan sehingga terjadi aktivitas penyembuhan luka yang signifikan (Dogra et al., 2022). Penggunaan gula pasir 100% (*sugar dressing*) bertujuan untuk memperkuat efek osmotik guna menarik cairan berlebih pada luka, sementara daun cocor bebek menyediakan bahan aktif untuk regenerasi jaringan. Gula bersifat higroskopis yang mampu menyerap kelembapan dari lingkungan di sekitarnya, berkontribusi terhadap pengurangan eksudat luka (Ivanalee et al., 2018).

Gula meningkatkan osmolalitas lingkungan luka, yang mempengaruhi aktivitas ketinggian air sehingga pemberian gula sebagai terapi akan menarik limfosit dan makrofag ke jaringan luka untuk melakukan fagositosis, membersihkan luka dari bakteri dan jaringan yang telah mati (Ivanalee et al., 2018). Salah satu metode pemberian obat untuk luka yang lebih steril dapat dilakukan dengan sediaan *powder*. Dari sudut pandang formulasi, *powder* adalah strategi formulasi sederhana untuk memberikan dosis yang dapat disalurkan lebih besar dalam volume yang lebih kecil (Emami dan Ebrahimi, 2023).

Penggunaan daun cocor bebek dengan efek antimikroba dan antiinflamasi dapat dipadukan dengan *sugar dressing* yang menciptakan kondisi osmotik untuk menekan pertumbuhan bakteri. Kombinasi ini diharapkan mampu mempercepat proses penyembuhan luka melalui efek sinergis antara agen fitoterapi dan lingkungan luka yang optimal. Dengan demikian, peneliti melakukan penelitian ini untuk menganalisis komposisi dan mendapatkan perbandingan *sugar dressing* dan daun cocor bebek yang paling efektif dan optimal dalam penyembuhan luka laserasi dalam sediaan *powder*. Diharapkan, penelitian ini dapat berkontribusi meningkatkan kesadaran masyarakat akan banyaknya potensi yang dimiliki oleh bahan alami sebagai alternatif terapi luka.

1.2 Teori

1.2.1 Mencit

Mencit (*Mus musculus*) telah menjadi model hewan coba yang penting dalam penelitian biomedis selama lebih dari 100 tahun (Fujiwara et al., 2022). Penggunaan mencit dalam penelitian ilmiah, terutama dalam bidang biologi, farmakologi, genetika, toksikologi, patologi, histopatologi, berkisar dari 40% hingga 80% sebagai model hewan coba di laboratorium. Ciri khas mencit adalah ukurannya yang relatif kecil dan panjang badan hanya 7-10 cm. Mencit termasuk hewan omnivora yang dapat hidup di berbagai tempat di seluruh dunia (Khairani et al., 2024).

Mencit memiliki siklus hidup yang singkat, yaitu sekitar dua hingga tiga tahun, dengan tingkat reproduksi yang sangat tinggi. Kondisi ini memungkinkan populasi mencit mudah dikembangkan tanpa risiko kepunahan, sehingga selalu tersedia untuk kebutuhan penelitian. Dari segi ekonomi, mencit termasuk hewan percobaan yang murah dan mudah diperoleh dalam jumlah besar. Biaya pemeliharaan yang rendah membuat penggunaan mencit dapat menekan total biaya penelitian tanpa mengurangi kualitas hasil (Putri, 2018).

Mencit memiliki kemiripan biologis, fisiologis, dan genetika dengan manusia, menjadikannya model ideal untuk penelitian (Mutiarahmi et al., 2020). Pemeliharaan mencit relatif mudah, terutama dalam populasi besar. Mencit termasuk dalam kelompok hewan rodentia atau pengerat. Mencit dewasa bertahan hidup selama satu hingga tiga tahun, dengan berat jantan 20-40 g dan betina 18-35 g. Mereka dapat bertahan hidup pada suhu sekitar 30°C (Khairani et al., 2024).



Gambar 1. Mencit (*Mus musculus*) (Khairani et al., 2024)

Menurut Khairani et al. (2024), berikut ini adalah taksonomi mencit (*Mus musculus*):

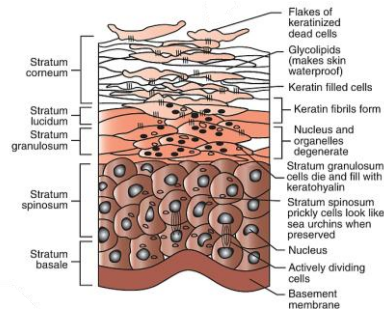
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

1.2.2 Kulit

Sistem integumen terdiri dari kulit beserta struktur *adnexa*-nya, seperti rambut, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat. Kulit merupakan penghalang pelindung penting yang mengurangi kehilangan air, invasi mikroorganisme, dan trauma abrasif (Fails dan Magee, 2018). Kulit membentuk penghalang yang lengkap terhadap kondisi eksternal yang memungkinkan timbulnya potensi ancaman termasuk trauma fisik dan kimia, mikroorganisme, dan radiasi memungkinkan individu untuk hidup dengan lebih aman (McKnight et al., 2022).

Kulit yang juga dikenal sebagai sistem integumen adalah organ terbesar dalam tubuh hewan dan manusia. Kulit menjadi penghalang fisik pertama yang melindungi tubuh dari lingkungan luar. Kulit tersusun atas tiga lapisan, yaitu lapisan epidermis atau lapisan superfisial, lapisan dermis, dan lapisan hipodermis yang dikenal juga sebagai jaringan subkutan (Lotfollahi, 2024).

Epidermis. Epidermis merupakan lapisan luar yang dibentuk oleh epitel skuamosa berlapis yang sebagian besar terdiri dari keratinosit dan juga sel dendritik (melanosit, sel *Merkel*, dan sel *Langerhans*). Epidermis dibagi menjadi beberapa lapisan menurut morfologi keratinosit dan tingkat diferensiasi. Pada kulit tipis, epidermis tersusun atas empat lapisan sedangkan pada kulit tebal, epidermis tersusun atas lima lapisan, yaitu *stratum corneum*, *stratum lucidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum*, dan *stratum germinativum* (Lotfollahi, 2024).

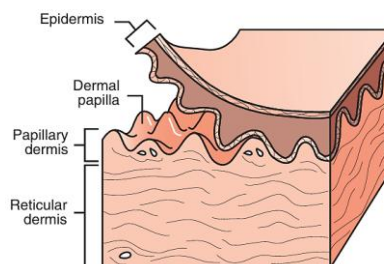


Gambar 2. Lapisan epidermis (Colville dan Bassert, 2016)

Dermis. Dermis adalah lapisan kulit inti dari sistem integumen, sebagai penyokong epidermis (Aspinall dan Cappello, 2020). Dermis terdiri dari dua lapisan, yaitu dermis papiler dan dermis retikuler. Dermis papiler adalah lapisan atas yang lebih tipis, terdiri dari jaringan ikat longgar yang bersentuhan dengan jaringan ikat epidermis. Lapisan ini terdiri dari matriks ekstraseluler dan fibroblas. Fibroblas juga mengeluarkan fibronectin dan asam hialuronat, dua komponen utama matriks ekstraseluler yang berperan dalam penyembuhan luka (Lotfollahi, 2024).

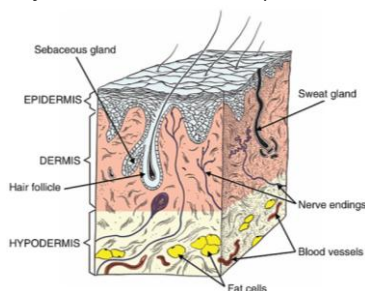
Dermis papiler mengandung pembuluh darah, limfatik, sel epitel, otot dan neuron. Lapisan retikuler dalam adalah lapisan yang lebih dalam, lebih tebal, dan terdiri dari jaringan ikat padat. Lapisan ini mengandung jaringan besar pembuluh darah dan serat kolagen yang memberikan kekuatan tarik pada kulit. Jaringan ikat fibroelastis, yang sebagian besar terdiri dari kolagen dan fibroblas (Lotfollahi, 2024).

Batas antara kedua lapisan ini tidak jelas, karena berkas serat kolagen dari lapisan papiler menyatu dengan berkas serat kolagen dari lapisan retikuler. Sebagian besar daerah kulit, pada lapisan dermis papiler membentuk tonjolan seperti puting yang disebut papila dermal yang menjulang ke epidermis. Tonjolan ini membantu menyatukan epidermis dan dermis serta menyediakan area permukaan tambahan untuk pertukaran nutrisi, limbah, dan pengaturan suhu (Colville dan Bassert, 2016).



Gambar 3. Lapisan dermis (Colville dan Bassert, 2016)

Hipodermis. Hipodermis atau lapisan subkutan, secara teknis bukan bagian dari kulit tetapi merupakan lapisan jaringan ikat longgar dan lemak yang terletak di bawah kulit. Lapisan ini mengandung serat elastis yang memberikan kelenturan pada kulit (Aspinall dan Cappello, 2020). Lapisan ini juga mengandung jaringan ikat longgar yang kaya akan sel lemak, pembuluh darah, limfatik, serta saraf. Hipodermis memungkinkan kulit bergerak bebas di atas tulang dan otot tanpa menimbulkan ketegangan yang dapat menyebabkan robekan (Colville dan Bassert, 2016).



Gambar 4. Struktur kulit mamalia (Fails dan Magee, 2018)

1.2.3 Luka Laserasi

Luka didefinisikan sebagai keadaan saat sebagian jaringan tubuh mengalami kerusakan yang disebabkan oleh berbagai trauma (Primadina et al., 2019). Dalam hal ini, luka laserasi merupakan luka robek akibat kecelakaan, mengakibatkan kerusakan pada kulit. Luka yang terpapar oleh udara karena adanya kerusakan jaringan dibawahnya termasuk dalam luka terkontaminasi (Oktaviani et al., 2019). Luka laserasi merupakan hasil dari benturan tubuh terhadap permukaan tumpul, benturan tubuh dengan permukaan tajam, ataupun kombinasi keduanya (Ressel et al., 2016). Luka laserasi berbentuk tidak beraturan akibat terkena benda tajam atau tumpul yang menembus jaringan kulit hingga menyentuh otot (Pratama dan Jayawardhita, 2021).

Dalam penelitian terhadap 271 kasus kriminal, 79 diantaranya melibatkan cedera non kecelakaan, yang 52% di antaranya merupakan trauma tumpul (de Siqueira et al., 2016). Laserasi terjadi pada jaringan akibat adanya gaya *crushing* (penekanan) atau *stretching* (penarikan) pada kulit. Umumnya, benda tumpul atau permukaan kasar menyebabkan laserasi ketika kulit dan jaringan ikat di bawahnya tertarik di atas tonjolan tulang yang dangkal, yang berfungsi sebagai alas keras bagi kulit. Pada area tubuh tanpa tulang di bawahnya, luka serupa dapat terjadi jika benda tajam menekan dan menghancurkan kulit. Dengan demikian, lokasi laserasi dapat memberikan petunjuk mengenai bentuk benda penyebabnya. Laserasi pada area tubuh dengan tonjolan tulang bisa disebabkan oleh hantaman benda tumpul (seperti pipa atau tongkat), sedangkan pada area dengan otot atau jaringan lemak tebal, laserasi biasanya dihasilkan oleh benda yang lebih tajam (seperti gigi atau kapak tumpul) (Ressel et al., 2016).

Secara makroskopis, laserasi ditandai oleh robekan jaringan yang bentuk dan kedalamannya bervariasi dengan tepi yang tidak beraturan. Jika komponen jaringan yang lebih elastis seperti pembuluh darah dan saraf tetap utuh, sering kali terlihat

melintasi robekan tersebut, fenomena ini disebut *tissue bridging* dan menjadi tanda khas laserasi. Ujung laserasi sering menunjukkan robekan tambahan yang menyimpang dari sumbu utama luka, disebut *swallow tails*, yang muncul ketika robekan mengikuti garis anatomi kulit tertentu (Ressel et al., 2016).



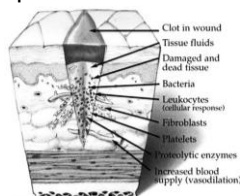
Gambar 5. Luka laserasi dan luka insisi. 1, abrasi atau memar pada tepi luka. 2, “swallow tails” (ujung luka yang menyimpang dari sumbu utama). 3, *tissue bridges* (jaringan penghubung yang tetap utuh di dalam luka laserasi). 4, rambut terpotong pada luka insisi (Ressel et al., 2016)

Gaya tekan (*crushing force*) menghasilkan laserasi dengan tepi kasar dan adanya abrasi pada kulit di sekitar luka, akibat gesekan benda penyebab. Laserasi dapat menyerupai luka insisi sehingga sulit dibedakan (de Siqueira et al., 2016). Perbedaan morfologi keduanya dapat dilihat pada Gambar 5. Pemeriksaan mikroskopis pada rambut di tepi luka juga dapat membantu, di mana luka laserasi rambut terlihat hancur atau remuk, sedangkan pada luka insisi rambut terpotong rapi (Ressel et al., 2016).

1.2.4 Fase Penyembuhan Luka

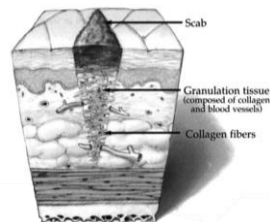
Penyembuhan luka melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik termasuk proses dinamis serta kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular, *remodeling* parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen (Primadina et al., 2019). Proses penyembuhan luka secara klasik dibagi menjadi empat fase, yaitu hemostasis (detik sampai menit), inflamasi (3-5 hari), proliferasi (4-14 hari), dan *remodeling* (8 hari menjadi 1 tahun) (Lomban et al., 2020).

Segera setelah terjadi cedera pada kulit, fase hemostasis tercapai melalui vasokonstriksi dan aktivasi pembekuan darah intrinsik yang dimediasi oleh trombosit, berakhir dengan pembentukan bekuan fibrin. Pelepasan sitokin proinflamasi dari jaringan yang rusak dan dari bekuan darah yang baru terbentuk berfungsi sebagai sinyal kemotaktik kuat untuk menarik neutrofil, sel endotel, dan fibroblas ke area luka. Dengan demikian, pembentukan bekuan fibrin merupakan langkah penting dalam memulai fase inflamasi dan fase perbaikan luka berikutnya (Mickelson et al., 2016).



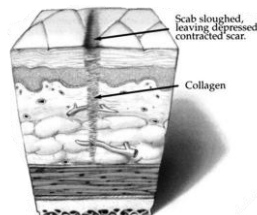
Gambar 6. Fase inflamasi (vasodilatasi) (Mickelson et al., 2016)

Fase inflamasi atau peradangan ialah suatu respon perlindungan oleh jaringan untuk membuang sel dan jaringan nekrotik yang disebabkan oleh kerusakan sel. Pada fase inflamasi terjadi peningkatan aliran darah ke daerah luka. Bersamaan dengan aliran darah, terjadi juga aliran fibrin untuk menutup pembuluh darah yang luka dan melindungi adanya infeksi bakteri. Pada fase ini juga terjadi pengerahan sel darah putih, monosit dan makrofag yang berfungsi untuk memfagositosis mikroorganisme dan sisa sel-sel mati (Wardani dan Rachmania, 2017). Peningkatan aliran darah serta keluarnya cairan dari pembuluh darah (ekstravasasi) yang disertai terhambatnya drainase limfatik menyebabkan tanda-tanda klasik peradangan, yaitu panas, kemerahan, dan pembengkakan (Mickelson et al., 2016).



Gambar 7. Fase proliferasi (Mickelson et al., 2016)

Pada fase proliferasi terdapat dua proses penting yang berjalan secara bersamaan, yaitu proses angiogenesis (pembentukan pembuluh kapiler baru) dan penutupan luka bakar yang meliputi re-epitelisasi, pembentukan jaringan granulasi, dan deposisi kolagen pada daerah luka. Selama fase proliferasi bagian kulit yang mengalami luka akan dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen yang akan membentuk suatu jaringan berwarna kemerahan mengandung pembuluh darah pada dasar luka yang disebut jaringan granula (Ananta, 2020).



Gambar 8. Fase *remodeling* (Mickelson et al., 2016)

Fase terakhir, yaitu fase *remodeling*. Tahap ini merupakan fase pematangan luka yang terdiri atas penyerapan sel-sel radang, pembentukan kolagen lanjutan, penutupan dan penyerapan kembali pembuluh darah baru, pengerutan luka, dan pemecahan kolagen berlebih. Fase ini dimulai sejak akhir fase proliferasi dan dapat berlangsung hingga berbulan-bulan. Pada fase ini luka akan mengalami proses maturasi dengan serat kolagen dan elastin yang secara terus menerus akan disimpan dan dibentuk kembali (Ananta, 2020). Serat-serat kolagen berorientasi mengikuti garis tegangan jaringan tubuh (*tension lines*) dan memperoleh kekuatan tambahan melalui pembentukan ikatan silang (*cross-linking*). Seiring waktu, jaringan parut (*scar*) menjadi lebih rata, lebih lunak, dan kurang seluler. Namun, kekuatan jaringan normal tidak pernah pulih sepenuhnya, dengan tingkat kekuatan maksimal yang hanya mencapai sekitar 80% dari jaringan asli (Mickelson et al., 2016).

Selama proses penyembuhan luka, sel-sel inflamasi seperti neutrofil dan makrofag mengalami peningkatan penggunaan oksigen untuk memproduksi ROS yang berfungsi sebagai agen bakterisidal untuk membunuh patogen yang menginvasi area cedera (Komariah et al., 2023). *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau spesies oksigen reaktif adalah kelompok molekul reaktif, termasuk di antaranya superoksida dan hidrogen peroksida, yang dihasilkan secara alami oleh tubuh sebagai bagian dari mekanisme pertahanan dan pensinyalan sel (Soares et al., 2023). Apabila produksi ROS terjadi secara berlebihan dan sistem antioksidan tubuh tidak mampu menetralkannya, akan muncul kondisi yang disebut stres oksidatif (Komariah et al., 2023). Kadar ROS yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan langsung pada DNA sel, menginaktivasi enzim, dan mengganggu komunikasi antar sel (Soares et al., 2023). Dalam konteks penyembuhan luka, stres oksidatif sangat merugikan karena menghambat kemampuan migrasi dan proliferasi sel fibroblas, mengganggu pembentukan kolagen, serta memperpanjang fase inflamasi yang menyebabkan luka menjadi kronis (Komariah et al., 2023).

1.2.5 Daun Cocor Bebek

Cocor bebek termasuk tanaman family *Crassulaceae* yang tumbuh baik di daerah beriklim sedang dan tropis. Cocor bebek sering digunakan sebagai tanaman hias dan juga memiliki khasiat penyembuhan luka. Daun cocor bebek dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis yang memiliki sifat antikanker, antivirus, antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan (Qomaliyah et al., 2023). Kandungan kimia yang terdapat dalam daun cocor bebek, seperti flavonoid (kuersetin), polifenol, dan triterpenoid, berkontribusi terhadap sifat-sifat tersebut (Biswas et al., 2021).



Gambar 9. Daun cocor bebek (Dogra et al., 2022)

Menurut Dogra et al. (2022), taksonomi daun cocor bebek sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Saxifragales
Family	: Crassulaceae
Genus	: <i>Kalanchoe</i>
Spesies	: <i>Kalanchoe pinnata</i>

1.2.6 *Sugar dressing*

Sugar dressing adalah metode pemanfaatan gula pasir (sukrosa) sebagai terapi penyembuhan luka karena mudah diperoleh dengan biaya rendah di sebagian besar wilayah geografis (Haesler, 2023). Gula memiliki osmolaritas tinggi yang dapat mengurangi edema luka, menarik makrofag, mempercepat pelepasan jaringan mati (*sloughing*), menyediakan sumber energi bagi sel, mendorong pembentukan lapisan protein pelindung pada permukaan luka, serta meningkatkan pembentukan jaringan granulasi (Mickelson et al., 2016). Mekanisme utama *sugar dressing* bekerja melalui efek osmotik yang berkaitan erat dengan regulasi aktivitas air di dalam area luka. Gula dalam konsentrasi tinggi mampu menciptakan lingkungan dengan tingkat aktivitas air yang sangat rendah, sehingga secara efektif menghambat pertumbuhan serta pertahanan hidup bakteri. Perubahan kadar air yang terjadi secara mendadak saat pengaplikasian gula dalam jumlah besar dapat menyebabkan kematian sel mikroorganisme patogen secara langsung (Ivanalee et al., 2018).

Selain sifat antimikrobanya, *sugar dressing* berperan aktif dalam merangsang berbagai respon biologis yang mempercepat pemulihan jaringan kulit. Gula mampu memicu sekresi TGF- α (*transforming growth factor-alpha*) yang berfungsi sebagai aktivator untuk mensintesis kolagen guna membangun kembali struktur kulit yang rusak. Penggunaan *sugar dressing* juga terbukti efektif dalam menarik sel makrofag ke jaringan luka untuk melakukan fagositosis, serta mensintesis faktor pertumbuhan lain seperti FGF, TGF- β , dan EGF (Ivanalee et al., 2018). Selain itu, gula membantu mengekspresikan reseptor integrin $\alpha 2$ dan $\beta 1$ yang berperan penting dalam proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen (Katmini et al., 2025). EGF (*Epidermal growth factor*) merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang terdapat dengan konsentrasi yang tinggi selama tahap awal penyembuhan luka. EGF meningkatkan epitelisasi luka dan mengurangi jaringan parut dengan mencegah kontraksi luka yang berlebih (Ivanalee et al., 2018).

Secara klinis, *sugar dressing* memiliki tingkat osmolaritas yang lebih tinggi dibandingkan plasma tubuh. Kelebihan tersebut mampu mengurangi edema lokal dengan cepat melalui penarikan cairan berlebih dari jaringan. Tekanan osmotik yang kuat ini tidak hanya menstimulasi pertumbuhan jaringan granulasi yang sehat, tetapi juga mempermudah pembersihan kotoran pada area luka (Ivanalee et al., 2018).

1.2.7 Profil Eritrogram

Eritrogram adalah profil pemeriksaan sel darah merah yang mencakup tiga parameter utama, yaitu jumlah total eritrosit, kadar hemoglobin (Hb), dan nilai hematokrit (HCT) (Widhyari et al., 2018). Ketiga komponen ini berfungsi sebagai parameter fisiologis yang mencerminkan kondisi kesehatan dan status imun makhluk hidup karena darah berperan krusial dalam transportasi nutrisi, oksigen, karbon dioksida, serta hasil metabolisme ke seluruh jaringan tubuh (Rahmawati et al., 2023).

Eritrosit (sel darah merah) berperan sebagai pengangkut oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh serta membawa hasil sisa metabolisme (Widyawati et al., 2021). Hemoglobin (Hb) merupakan protein khusus di dalam sel

darah merah yang bertugas mengikat oksigen, produksi hemoglobin sangat bergantung pada ketersediaan zat besi dan zat pendukung lainnya di dalam tubuh. Hematokrit (HCT) adalah parameter yang menunjukkan perbandingan volume sel darah merah terhadap plasma darah. Nilai hematokrit biasanya sejalan dengan hemoglobin, di mana secara klinis nilainya sering didefinisikan sebagai tiga kali lipat dari nilai hemoglobin (Gultom, 2025).

Nilai eritrogram ini bersifat fluktuatif dan dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti ras, jenis kelamin, usia, nutrisi pakan, serta kondisi lingkungan dan tingkat stres (Rahmawati et al., 2023). Salah satu pemicu utama penurunan kualitas eritrogram adalah stres oksidatif akibat produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan. Stres oksidatif ini dapat menurunkan hormon eritropoietin yang penting untuk pembentukan sel darah merah, mengganggu sintesis hemoglobin, serta melemahkan integritas membran eritrosit melalui peroksidasi lipid yang membuat sel menjadi sensitif dan mudah pecah (lisis) (Widyawati et al., 2021).

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap panjang luka dan profil eritrogram selama proses penyembuhan luka laserasi pada mencit (*Mus musculus*) dan menentukan komposisi perbandingan *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang menunjukkan potensi penyembuhan luka laserasi terbaik pada mencit (*Mus musculus*).

1.3.2 Manfaat

Penelitian ini berkontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya mengenai potensi perbandingan *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) sebagai agen terapi luka laserasi. Secara teoritis, hasil penelitian ini dapat menjadi rujukan bagi kajian ilmiah selanjutnya yang berfokus pada pemanfaatan senyawa bioaktif tanaman sebagai alternatif dalam proses regenerasi jaringan dan percepatan penyembuhan luka. Secara praktis, penelitian ini menghasilkan informasi empiris mengenai perbandingan *sugar dressing* dan daun cocor bebek dalam mempercepat fase penyembuhan luka secara lokal dan sistemik, sehingga dapat dijadikan dasar pengembangan formulasi obat herbal yang aman, ramah lingkungan, serta berbasis sumber daya alam lokal.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Riset dilaksanakan secara eksperimental pada bulan April-Juli 2024 secara luring di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Pendidikan, Laboratorium Fitokimia, dan Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

2.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian "*Posttest-only control group design with terminal sampling*". Hewan percobaan dibagi secara acak ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Panjang luka laserasi diukur dan sampel darah diambil secara berulang pada hari ke-3, ke-7, dan ke-14 setelah pemberian perlakuan. Rancangan ini digunakan untuk mengetahui pengaruh berbagai perbandingan *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek terhadap proses penyembuhan luka laserasi dari waktu ke waktu maupun pola perubahan antar kelompok perlakuan.

2.3 Populasi dan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode *simple random sampling*, sehingga setiap anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk terpilih menjadi sampel. Penelitian ini terdiri atas enam kelompok perlakuan dan setiap kelompok mengalami tiga kali pengambilan sampel pada waktu yang berbeda (hari ke-3, ke-7, dan ke-14). Setiap waktu pengambilan diperlakukan sebagai kelompok terpisah. Dengan demikian, perhitungan total kelompok untuk perhitungan besar sampel menurut rumus Federer adalah $t = 6 \times 3 = 18$. Nilai ini akan menunjukkan jumlah minimal ulangan atau hewan coba yang diperlukan pada setiap kelompok agar data yang diperoleh memiliki validitas statistik yang memadai.

Rumus Federer:

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

n = jumlah sampel perkelompok

t = jumlah pengelompokan

$$(n-1)(18-1) \geq 15$$

$$(n-1)(17-1) \geq 15$$

$$17(n-1) \geq 15$$

$$17n-17 \geq 15$$

$$17n \geq 15 + 17$$

$$n \geq 32/17$$

$$n \geq 1,88$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian ini memerlukan jumlah ulangan per kelompok minimal lebih dari 1,88 karena jumlah ulangan harus berupa bilangan bulat, maka nilai tersebut dibulatkan ke atas, sehingga setiap kelompok memerlukan minimal 2 ulangan untuk memenuhi syarat Federer dan menghasilkan data yang valid secara statistik. Dengan mempertimbangkan hal tersebut sekaligus untuk

mengurangi potensi bias, penelitian ini menggunakan 54 ekor mencit jantan berbobot rata-rata 35 g. Mencit dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, dengan 3 ekor per kelompok pada setiap waktu pengamatan, sehingga total 9 ekor mencit per kelompok yang pembagiannya ditunjukkan pada Tabel 1. Seluruh hewan coba diperoleh dari Kabupaten Maros, diaklimatisasi selama 7 hari, dan seluruh perlakuan dilakukan di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin.

2.4 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alu, ayakan 100 *mesh*, alat bedah minor, batang pengaduk, *bulk density tester*, blender, botol maserasi, cawan porselin, Erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 25 mL, *flow tester*, handscoon *latex*, *hematology analyzer*, kamera, kandang ukuran 40 cm x 40 cm, masker, *moisture content analyzer*, mortar, *pet clipper*, pipet hematokrit, *rotary evaporator*, sekam, spatula, *sput* 1 & 3 cc, *stopwatch*, tabung EDTA, timbangan *digital*, dan *underpad*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain akuades, asam asetat, aluminium foil, butanol, cairan fisiologis NaCl 0,9%, daun cocor bebek, etanol 70%, eter teknis, FeCl₃, gula pasir, HCl 2N, kapas, kertas perkamen, lempeng silika, mencit bobot rata-rata 35 g, NBF 10%, pereaksi Dragendorff, dan tisu.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pengurusan Berkas *Ethical Clearance* (EC)

Sebelum melakukan pengujian menggunakan hewan coba, maka dilakukan pengurusan berkas untuk mendapatkan surat rekomendasi etik atau *Ethical Clearance* (EC). EC merupakan suatu instrumen berisi keterangan tertulis untuk penelitian yang melibatkan makhluk hidup, menyatakan bahwa proposal penelitian layak dilakukan setelah persyaratan tertentu terpenuhi yang dikeluarkan oleh Komisi Etik penelitian, menjamin penelitian hewan sesuai standar etika sebelum pelaksanaan (Wahyuwardani et al., 2025).

2.5.2 Pembuatan Simplisia Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Bahan baku berupa daun cocor bebek diperoleh dari Jl. H. Kalla, Panaikang, Kecamatan Panakkukang, Kota Makassar. Daun yang digunakan dipilih dalam kondisi segar dan memenuhi kriteria morfologi yang baik. Proses pembuatan simplisia diawali dengan sortasi basah untuk memisahkan daun dari bagian batang, kemudian dilakukan pencucian menggunakan air mengalir hingga seluruh kotoran terangkat. Setelah bersih, daun dirajang untuk memperluas permukaan bahan sehingga dapat mempercepat proses pengeringan. Tahap pengeringan dilakukan secara bertahap, yakni melalui penjemuran di bawah sinar matahari dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 96 jam. Simplisia kering kemudian disortasi kering dan dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Serbuk tersebut selanjutnya diayak menggunakan ayakan 100 *mesh* untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam (Retnowati et al., 2023).

2.5.3 Ekstraksi Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan serbuk simplisia daun cocor bebek. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam toples bejana kemudian dimaserasi dengan menambahkan pelarut etanol 70% hingga terendam sempurna perbandingan 1:10, toples kemudian didiamkan selama 6 jam sambil sesekali diaduk, selanjutnya didiamkan selama 18 jam. Mengumpulkan filtrat yang diperoleh dengan melakukan penyaringan kemudian maserat yang tersisa, diremaserasi sebanyak dua kali dengan perlakuan yang sama, lalu pekatkan dengan alat *rotary evaporator* dan diuapkan menggunakan oven bersuhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Sari et al., 2023). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol. Pemilihan etanol didasarkan pada kemampuannya melarutkan senyawa semi polar hingga polar. Selain itu, etanol dapat menembus dinding sel, sehingga senyawa bioaktif dapat lebih mudah keluar dari sel tanaman (Reynaldi dan Yani, 2021).

2.5.4 Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan pengujian fitokimia secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif seperti alkaloid, saponin, dan tanin yang telah diketahui memiliki potensi dalam mempercepat proses penyembuhan luka (Astriyani, 2024). Sedangkan analisis kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa kuersetin yang menjadi flavonoid utama pada daun cocor bebek. Identifikasi atau skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan yang dilaksanakan untuk mengetahui keberadaan metabolit primer maupun sekunder pada daun cocor bebek (Qomaliyah et al., 2023).

Uji Alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang berperan sebagai antimikroba, antiinflamasi, dan analgesik, serta dilaporkan mampu meningkatkan sintesis kolagen dan penguatan jaringan granulasi sehingga mempercepat penyembuhan luka (Peña et al., 2023). Analisis alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Dragendorff, di mana 1 mL ekstrak ditambahkan 3 tetes HCl pekat 2N, kemudian pereaksi ditambahkan hingga muncul endapan jingga hingga cokelat sebagai indikasi positif keberadaan alkaloid (Endarini, 2016).

Uji Saponin. Saponin merupakan glikosida yang dapat menghasilkan busa bila dikocok dengan air. Senyawa ini diketahui memiliki sifat antimikroba dengan merusak membran sitoplasma bakteri (Misfa et al., 2020). Uji saponin dilakukan dengan metode uji busa (*foam test*), yaitu dengan memasukkan 1 g simplisia ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 50 mL aquades, kocok kuat lalu diamkan pada tabung reaksi. Terbentuk busa stabil menandakan hasil yang positif (Endarini, 2016).

Uji Tanin. Tanin merupakan kelompok polifenol bersifat astringen alami yang dapat menghentikan perdarahan, mencegah infeksi, dan mempercepat penyembuhan luka (Cholid et al., 2022). Sebanyak 1 g ekstrak direbus dalam 10 mL aquades selama 5 menit, kemudian filtrat ditetesi FeCl₃ 5% sebanyak 3-4 tetes. Perubahan warna menjadi biru hingga hitam kehijauan menunjukkan hasil positif adanya tanin (Endarini, 2016).

Uji Kuersetin. Kuersetin adalah flavonoid golongan flavonol yang berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Identifikasi senyawa kuersetin dilakukan dengan kromatografi lapis tipis, ekstrak kental hasil ekstraksi dilarutkan kembali dengan pelarut etanol, kemudian ditotolkan sepanjang *plat* dengan menggunakan pipet mikro pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 7 : 4 : 1. Setelah terelusi, lempeng diangkat dan dikeringkan lalu diamati pada UV 254 nm dan UV 366 nm (Sabrina et al., 2025).

2.5.5 Pembuatan *Sugar Dressing* dan Sediaan *Powder*

Gula pasir yang digunakan memiliki karakteristik putih bersih, kering, dan bebas kontaminasi. Bahan tersebut dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak dengan ayakan berukuran 100 *mesh* untuk memperoleh serbuk dengan ukuran partikel yang seragam. Serbuk yang telah lolos ayakan disimpan dalam wadah kedap udara untuk mencegah penyerapan kelembapan dan menjaga stabilitas kualitas selama penyimpanan. Formulasi *powder* dilakukan melalui pencampuran *sugar dressing* dan serbuk simplisia daun cocor bebek menggunakan metode tritulasi, yaitu teknik homogenisasi yang melibatkan pengadukan dan penghalusan bahan secara merata dalam mortar (Kalliantas et al., 2017). Pada penelitian ini diterapkan tiga variasi perbandingan bahan, yaitu 1:3, 1:1, dan 3:1 antara *sugar dressing* dan simplisia daun cocor bebek, guna memperoleh komposisi yang optimal berdasarkan keseimbangan kandungan aktif dan karakteristik fisik sediaan.

2.5.6 Evaluasi Sediaan

Uji Kelembapan. Uji kelembapan bertujuan untuk menentukan kadar zat yang mudah menguap saat pemanasan. Pengukuran dilakukan dengan memasukkan 1 g serbuk ke dalam alat *moisture content analyzer* dan mencatat persentase kelembapan yang ditampilkan oleh alat (Ningrum et al., 2021).

Laju alir. Pengukuran laju alir akan menunjukkan kemampuan serbuk untuk berpindah atau mengalir secara merata, dilakukan dengan memasukkan 25 g *powder* ke dalam alat *flow tester*, catat waktu alir yang diperlukan oleh serbuk untuk jatuh (Ningrum et al., 2021).

Sudut istirahat. Sudut istirahat merupakan uji yang digunakan untuk dapat mengetahui stabilitas fisik dan potensi penggumpalan *powder* yang dapat dilakukan dengan menambahkan 25 g *powder* pada corong *flow tester*, yang dipasang 10 cm dari ujung corong ke permukaan datar, lalu hitung diameter dan tinggi kerucut yang terbentuk (Ningrum et al., 2021).

2.5.7 Uji *in vivo*

Sebelum pengujian dilakukan, mencit diaklimatisasi di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin selama 7 hari. Pengujian *in vivo* dimulai dengan prosedur anestesi menggunakan eter sebagai agen anestesi inhalasi untuk

untuk menghilangkan rasa nyeri sementara, sehingga menjamin kenyamanan hewan dan mencegah terjadinya stres (Haryanto et al., 2025). Setelah itu, rambut pada daerah punggung mencit dicukur dan dibersihkan menggunakan NaCl fisiologis 0,9%. Proses pembuatan luka laserasi dilakukan pada punggung mencit dengan ukuran panjang sekitar 1,2 cm dan kedalamannya mencapai lapisan dermis, ditandai dengan keluarnya darah. Luka dibuat dengan bentuk tidak beraturan, menyerupai karakteristik alami luka laserasi, menggunakan alat bedah *scalpel* steril.

Tabel 1. Kelompok perlakuan

No.	Kelompok	Perlakuan
1	K-	Tanpa perlakuan
2	K+	Pemberian <i>sugar dressing</i>
3	P1	Pemberian simplisia daun cocor bebek
4	P2	Pemberian <i>sugar dressing</i> dan simplisia daun cocor bebek perbandingan 1:3
5	P3	Pemberian <i>sugar dressing</i> dan simplisia daun cocor bebek perbandingan 1:1
6	P4	Pemberian <i>sugar dressing</i> dan simplisia daun cocor bebek perbandingan 3:1

Setelah pembuatan luka laserasi, dilanjutkan dengan perlakuan berupa pemberian sediaan *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek dengan berbagai perbandingan sesuai dengan kelompok perlakuan yang tercantum pada Tabel 1. Aplikasi perlakuan dilakukan dua kali sehari, yaitu pada pagi dan sore hari, selama 14 hari berturut-turut, menyesuaikan dengan rentang waktu normal proses penyembuhan luka hingga mencapai fase proliferasi jaringan.

2.5.8 Pengamatan Kesembuhan Luka Berdasarkan Parameter Panjang Luka, Eritrosit, Hemoglobin, dan Hematokrit

Pengamatan proses penyembuhan luka dilakukan berdasarkan dua parameter utama, meliputi perubahan makroskopis berupa penurunan panjang luka serta profil eritrogram yang terdiri atas jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan nilai hematokrit. Penilaian terhadap gambaran klinis penyembuhan luka laserasi pada kulit mencit dilakukan pada hari ke-3, ke-7, dan ke-14 masa perlakuan. Selama periode tersebut dilakukan dokumentasi luka melalui pengambilan foto area luka menggunakan kamera dan pengambilan sampel darah.

Pengukuran panjang luka dilakukan secara makroskopis melalui observasi langsung menggunakan mata telanjang. Data hasil pengukuran yang didapatkan selanjutnya dianalisis menggunakan *software Image Raster* dengan mengonversi satuan *pixel* menjadi cm. Dengan demikian, data yang dianalisis adalah nilai panjang luka tiap hewan pada setiap titik waktu.

Sampel darah diambil melalui *sinus venosus retroorbital* menggunakan pipet hematokrit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *venoject* yang berisi *ethylendiamine tetraacetic acid* (EDTA). Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-3, ke-7, dan ke-14. Selanjutnya sampel darah dianalisis terhadap jumlah eritrosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin menggunakan alat *hematology analyzer*.

2.6 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Analisis data secara statistik dilakukan menggunakan SPSS®26 untuk penilaian panjang luka dan profil eritrogram. Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji homogenitas varians antar kelompok menggunakan uji *Levene*. Data yang terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok. Apabila varians data tidak homogen ($p < 0,05$) namun tetap berdistribusi normal, digunakan *Welch ANOVA* sebagai alternatif. Jika hasil analisis menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), maka dilakukan uji lanjut (*post hoc*). Uji *Tukey HSD* digunakan apabila asumsi homogenitas varians terpenuhi, sedangkan uji *Games-Howell* digunakan apabila varians antar kelompok tidak homogen. Seluruh data disajikan dalam bentuk tabulasi dan grafik untuk analisis deskriptif lebih lanjut.

2.7 Alur Penelitian

