

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka merujuk pada keadaan dimana sebagian jaringan tubuh mengalami kerusakan akibat trauma yang disebabkan oleh berbagai trauma (Wintoko dan Yadika, 2020). Hilang atau rusaknya integritas jaringan tubuh akan memicu reaksi dari tubuh untuk merencanakan proses penyembuhan luka dalam bentuk usaha untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Penyembuhan luka sangat penting untuk mengembalikan integritasnya dan merupakan suatu proses kompleks dan dinamis dengan pola yang dapat diprediksikan (Nanda *et al.*, 2017).

Penanganan luka, termasuk luka laserasi yang paling umum dilakukan, yaitu melalui penjahitan luka dengan benang bedah (Pratama dan Jayawardhita, 2021). Namun, penggunaan benang bedah memiliki kekurangan karena dapat terkontaminasi oleh bakteri dari lingkungan juga berpotensi menimbulkan infeksi dengan adanya bakteri tersembunyi yang melekat (Arbi *et al.*, 2019). Selain itu, pengobatan luka pada saat ini masih bergantung pada sediaan semisolid seperti salep yang ditujukan sebagai pemakaian topikal dengan kekurangan yakni mudah ditumbuhi mikroba (Soediono *et al.*, 2019).

Salah satu pilihan penanganan luka laserasi yang dinilai lebih steril adalah penggunaan sediaan berbentuk *powder* yang diformulasikan dari bahan alami, karena dapat membantu menurunkan respons peradangan pada jaringan luka. Keunggulan sediaan *powder* terletak pada luas permukaannya yang lebih besar sehingga memungkinkan proses penyerapan berlangsung lebih optimal dan lebih cepat dibandingkan sediaan yang berbentuk padat atau terkompresi (Saristiana *et al.*, 2023). Selain itu, *powder* yang dikembangkan untuk perawatan luka kulit memiliki kemampuan menyerap cairan luka dalam jumlah tinggi, yang berperan penting dalam mempercepat proses hemostasis serta mendukung regenerasi jaringan melalui pembentukan lapisan penghalang yang bersifat adhesif di permukaan luka dan membantu proses koagulasi darah (Zhao *et al.*, 2024).

Daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) merupakan salah satu bahan herbal yang mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Komponen dominan pada tanaman ini adalah senyawa fenolik, terutama kuersetin, yang diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi serta antimikroba (Megawati dan Oktarlina, 2023). Senyawa fenolik termasuk senyawa aromatik yang berasal dari struktur benzena, ditandai dengan adanya cincin aromatik dan satu atau lebih gugus hidroksil (–OH). Gugus hidroksil tersebut berperan sebagai pendonor atom hidrogen dalam menetralkan radikal bebas. Oleh karena itu, keberadaan senyawa fenolik dalam daun cocor bebek berkontribusi besar terhadap manfaatnya dalam proses penyembuhan luka. Selain itu, senyawa fenolik umumnya bersifat mudah larut dalam air dan sering ditemukan dalam bentuk terikat dengan gula (Mahardani dan Yuanita, 2021).

Gula pasir 100% (*sugar dressing*) telah banyak digunakan sebagai pembersih luka dan pengobatan untuk mempercepat penyembuhan luka. Gula bersifat

higroskopis yang mampu menyerap kelembapan dari lingkungan di sekitarnya, berkontribusi terhadap pengurangan eksudat luka. Selain itu, sifat higroskopis gula berkontribusi terhadap pengurangan edema pada dasar luka dan jaringan sekitarnya. Gula meningkatkan osmolalitas lingkungan luka, yang mempengaruhi aktivitas ketinggian air. Mekanisme ini menarik limfosit dan makrofag ke dasar luka dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Gula juga melepaskan hidrogen peroksida pada tingkat rendah dan tidak beracun, yang selanjutnya menghambat aktivitas bakteri (Haesler, 2023).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh kombinasi *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dalam mempercepat penyembuhan luka laserasi dilihat dari gambaran histopatologi kulit mencit dan bagaimana komposisi *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang tepat dalam penyembuhan luka laserasi pada mencit.

1.2 Teori

1.2.1 Mencit

Mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dengan kisaran penggunaan antara 40–80%. Mencit ini merupakan omnivora alami, sehat, kuat, prolific (mampu beranak banyak), kecil, dan jinak. Selain itu, mencit mudah didapat dengan harga relatif murah dengan biaya ransum yang rendah. Mencit tidak terlalu agresif, tetapi kadang-kadang bisa menggigit bila seseorang mencoba meraihnya atau menahannya. Mencit sering menunjukkan perilaku menggali dan bersarang. Tingkah laku tersebut membantu mencit mempertahankan suhu tubuhnya (Rejeki *et al.*, 2018).

Menurut Rejeki *et al.* (2018), taksonomi mencit sebagai berikut:

Kingdom: Animalia

Filum: Chordata

Kelas: Mamalia

Ordo: Rodentia

Famili: Murinane

Genus: Mus

Spesies: Mus musculus



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

Penggunaan mencit sering digunakan dalam penelitian ilmiah terutama dalam penelitian biologi, genetika, toksikologi, patologi, histopatologi dan bidang-bidang

lainnya. Mencit memiliki ciri-ciri khusus seperti ukuran yang relatif kecil dengan panjang tubuh 7-10 sentimeter, tidak termasuk panjang ekor. Mencit adalah hewan yang dapat ditemukan diseluruh dunia dan dapat hidup diberbagai habitat, memiliki siklus hidup yang cepat dengan masa hidup relatif singkat, dapat bereproduksi dengan cepat dan memiliki jumlah keturunan yang banyak. Mencit memiliki kemampuan untuk bertahan hidup selama 1-3 tahun. Mencit jantan dewasa memiliki berat mencapai 20-40 gram, sementara betina memiliki berat antara 18-35 gram. Mencit dapat hidup pada suhu sekitar 30°C. Mencit termasuk dalam kelompok hewan rodentia atau pengerat, yang memiliki variasi genetik yang luas dan karakteristik anatomis serta fisiologis yang sangat khas (Khairani et al., 2024).

1.2.2 Sugar Dressing

Gula telah digunakan sejak akhir tahun 1600-an sebagai pembersih luka dan awal tahun 1700-an sebagai pengobatan untuk mempercepat penyembuhan luka. Gula mudah diperoleh dengan harga yang sangat terjangkau di sebagian besar wilayah geografis. Dalam bentuk granular/kristal, gula terdiri dari glukosa dan fruktosa, yang terikat bersama membentuk sukrosa. Gula bersifat higroskopis yang berarti gula menyerap kelembapan dari lingkungan di sekitarnya, yang berkontribusi pada pengurangan eksudat luka. Hal ini juga menyebabkan debridemen mekanis melalui perlekatan pada balutan gula untuk pengangkatan tanpa merusak jaringan sehat. Selain itu, sifat higroskopis gula berkontribusi pada debridemen autolitik, dan pengurangan edema pada dasar luka dan jaringan di sekitarnya (Haesler, 2023).

Gula memiliki kandungan sukrosa. Kandungan sukrosa dalam gula mampu memberikan efek osmotik yang berhubungan dengan aktivitas air pada luka, sehingga dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri. Selain itu, gula juga merangsang sekresi TGF- α (*Transforming Growth Factor-alpha*), menarik makrofag ke area luka, serta mengekspresikan reseptor integrin $\alpha 2$ dan $\beta 1$ yang berperan dalam proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen (Rezeki et al., 2024). Gula memiliki toksisitas rendah dan menurunkan pH dasar luka menjadi sekitar 5.0, yang lebih kondusif untuk penyembuhan daripada pH basa (Haesler, 2023).

1.2.3 Daun Cocor Bebek

Salah satu tanaman yang memiliki khasiat dalam mengobati luka adalah tanaman cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*). Tanaman ini kaya akan senyawa saponin, flavonoid, dan tanin. Daunnya mengandung zat kimia yang disebut bufadienolides. Dalam penyebarannya, tanaman cocor bebek ini banyak terdapat di daerah beriklim tropis seperti asia, Australia, Selandia baru, India barat, Makaronesia, Maskarenes, Galapagos, Melanesia, Polinesia, dan Hawaii. Morfologi ilmiah tanaman cocor bebek yaitu Kerajaan Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Ordo Saxifragales, Famili Crassulaceae, Genus Kalanchoe, Spesies Kalanchoe pinnata (Megawati dan Oktarlina, 2023). Tanaman ini memiliki keunikan dalam sistem reproduksinya, yaitu melalui tunas-tunas kecil yang tumbuh di tepi daun, sehingga mudah berkembang biak dan dibudidayakan. Dalam pengobatan tradisional, tanaman cocor bebek telah lama digunakan untuk mengobati berbagai gangguan kesehatan seperti luka (Purwanti dan Kholifah et al., 2025).

Daun cocor bebek termasuk tanaman sokulen (mengandung air) yang

mengandung senyawa saponin, tanin dan flavonoid dan digunakan sebagai obat tradisional. Bagian dari cocor bebek yang dipakai untuk menyembuhkan luka adalah daun (Megawati dan Oktarlina, 2023). Sifat penyembuhan diduga berhubungan dengan adanya senyawa fenolik seperti flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid diketahui memiliki sifat penyembuhan yang berhubungan dengan efek astringen (mengencangkan jaringan). Flavonoid merupakan salah satu keluarga senyawa alami yang paling menarik untuk pengobatan berbagai masalah kulit (Luckman et al., 2024). Kandungan flavonoid dalam daun cocor bebek memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi yang dapat menghambat mediator inflamasi. Kerja flavonoid hampir sama dengan kerja obat antiinflamasi golongan AINS. Selain itu, flavonoid memiliki sifat sebagai antioksidan dan antibakteri. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam kesembuhan luka adalah menginduksi sistem seluler antioksidan dan menambah sekitar 50 % konsentrasi seluler glutathione dalam tubuh (Lestari et al., 2022).

1.2.4 Luka Laserasi

Luka laserasi merupakan luka yang disebabkan oleh benda keras yang menimbulkan kerusakan permukaan kulit hingga robekan pada kulit (Oktaviani et al., 2019). Luka laserasi adalah robekan pada jaringan yang terjadi akibat penerapan gaya tekan atau (*crushing*) atau gaya peregangan (*stretching*) pada kulit. Benda atau permukaan tumpul umumnya menyebabkan laserasi ketika kulit dan jaringan ikat di bawahnya teregang di atas tonjolan tulang yang dangkal, sehingga tulang tersebut berperan sebagai alas keras bagi kulit. Secara makroskopis, luka laserasi ditandai dengan robekan jaringan yang bentuknya bervariasi, dengan kedalaman yang tidak sama dan tepi luka yang tidak teratur. Luka laserasi selalu disertai perdarahan. Luas perdarahan bergantung pada beberapa faktor, antara lain anatomi daerah yang terkena, kedalaman luka, serta kondisi koagulasi darah (Ressel et al., 2016).

1.2.5 Histopatologi Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks karena adanya kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi secara berkesinambungan. Proses penyembuhan luka dibagi ke dalam lima tahap, meliputi tahap homeostasis, inflamasi, migrasi, proliferasi, dan maturasi. Pendarahan juga mengaktifkan sistem homeostasis yang menginisiasi komponen eksudat, seperti faktor pembekuan darah. Fibrinogen di dalam eksudat memiliki mekanisme pembekuan darah dengan cara koagulasi terhadap eksudat (darah tanpa sel dan platelet) dan pembentukan jaringan fibrin, kemudian memproduksi agen pembekuan darah dan menyebabkan pendarahan berhenti. Keratinosit dan fibroblas memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka. Keratinosit akan menstimulasi fibroblas untuk mensintesis faktor pertumbuhan, lalu akan terjadi stimulasi proliferasi keratinosit. Selanjutnya, fibroblas mendapatkan fenotipe miofibroblas di bawah kontrol dari keratinosit. Hal ini dipengaruhi oleh keseimbangan antara proinflamator atau pembentukan faktor pertumbuhan (TGF)- β -dominated (Purnama et al., 2017).

Inflamasi terjadi karena adanya mediasi oleh sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, dan efek terhadap reseptor. Selanjutnya adalah tahap migrasi, yang merupakan pergerakan sel epitel dan fibroblas pada daerah yang mengalami cedera

untuk menggantikan jaringan yang rusak atau hilang. Sel ini meregenerasi dari tepi, dan secara cepat bertumbuh di daerah luka pada bagian yang telah tertutup darah beku bersamaan dengan pengerasan epitel. Tahap proliferasi terdiri dari neoangiogenesis, pembentukan jaringan yang tergranulasi, dan epitelisasi kembali. Jaringan yang tergranulasi terbentuk oleh pembuluh darah kapiler dan limfatik ke dalam luka dan kolagen yang disintesis oleh fibroblas dan memberikan kekuatan pada kulit. Sel epitel kemudian mengeras dan memberikan waktu untuk kolagen memperbaiki jaringan yang luka. Tahap maturasi berkembang dengan pembentukan jaringan penghubung selular dan penguatan epitel baru yang ditentukan oleh besarnya luka (Purnama et al., 2017).

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dalam mempercepat penyembuhan luka laserasi dilihat dari gambaran histopatologi kulit mencit serta mengetahui komposisi *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang tepat dalam penyembuhan luka laserasi pada mencit

1.3.2 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah dalam bidang histopatologi veteriner, khususnya terkait efek kombinasi *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap proses penyembuhan luka pada kulit mencit, sehingga dapat memperkaya literatur mengenai pemanfaatan bahan alami sebagai agen penyembuhan luka. Selain itu, secara praktis penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan formulasi sediaan topikal alami yang lebih efektif, ekonomis, dan mudah diperoleh untuk perawatan luka laserasi pada hewan.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan selama kurang lebih 3 bulan dari bulan mei-juli 2024 secara luring dengan tetap memperhatikan protokol kesehatan di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin, Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alu, ayakan 100 *mesh*, *basemold*, batang pengaduk, blender, *cover glass*, gunting, *handscoon*, inkubator, kamera, mikroskop olympus CX22 beserta optilab 22, mikrotom, nampan, *object glass*, oven, pinset, pipet kapiler, *rotary evaporator*, satu set alat bedah minor, sekam, spuit 1 cc dan 3 cc, *stopwatch*, timbangan digital, *underpad*, dan wadah. Sedangkan bahan yang digunakan adalah akuades, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% 96%), asam asetat, butanol, cairan fisiologis NaCl, daun cocor bebek, etanol 70%, eter, FeCl₃, gula pasir, HCl pekat, *hematoksilin-eosin*, *histoplast*, kapas, lempeng silika, mencit bobot rata-rata 35 g, NBF 10%, *paraffin* cair, pereaksi Dragendorff, *tissue*, dan *xylol*.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental *in vivo*. Metode yang digunakan untuk menilai perubahan histopatologi kulit pada mencit setelah diberi perlakuan. Pengamatan pada luka dilakukan pada hari ke-7 dan 14 untuk dapat melihat perubahan yang terjadi dalam fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Data dari skoring histopatologi ditabulasi dan dianalisis secara statistik.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Pengurusan Berkas *Ethical Clearance* (EC)

Sebelum pelaksanaan pengujian menggunakan hewan percobaan, terlebih dahulu dilakukan pengurusan administrasi berupa permohonan surat rekomendasi etik atau *Ethical Clearance* (EC). *Ethical Clearance* merupakan dokumen resmi yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian sebagai bentuk persetujuan terhadap penelitian yang melibatkan makhluk hidup, yang menyatakan bahwa proposal penelitian telah memenuhi kaidah etik dan dinilai layak untuk dilaksanakan setelah seluruh persyaratan yang ditetapkan dipenuhi (Wahyuwardani et al., 2020).

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

Daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) diperoleh dari Jl. H. Kalla, Panai kang, Kecamatan Panakukang, Makassar. Daun tersebut terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan kotoran, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 96 jam untuk mengurangi kadar air. Setelah kering, daun diblender hingga menjadi serbuk halus, lalu diayak menggunakan saringan berukuran 100 mesh agar diperoleh partikel dengan ukuran yang seragam dan halus (Sylvia et al., 2022).

2.4.3 Ekstraksi dan Skrinning Fitokimia Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Proses ekstraksi serbuk simplisia dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 mL dalam perbandingan 1:10. Untuk memperoleh hasil yang optimal, dilakukan remaserasi selama 1 hari guna memaksimalkan pengambilan metabolit sekunder dari serbuk simplisia hingga dihasilkan filtrat yang jernih. Filtrat kemudian disaring menggunakan kertas saring, dipekatkan dengan *rotary evaporator*, dan dikeringkan pada suhu 50°C menggunakan oven hingga terbentuk ekstrak kental (Meilia et al., 2022). Metode maserasi dipilih karena menggunakan pelarut etanol yang mampu melarutkan senyawa semi-polar hingga polar. Selain itu, etanol memiliki kemampuan menembus dinding sel tanaman, sehingga mempermudah keluarnya senyawa bioaktif dari jaringan tanaman (Reynaldi dan Yani, 2021). Selanjutnya, dilakukan uji fitokimia dengan tujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit primer dan metabolit sekunder pada sampel, meliputi alkaloid, saponin, dan tanin, serta kuersetin yang dikenal sebagai senyawa flavonoid dominan dalam daun cocor bebek (Qomaliyah et al., 2023).

2.4.4 Pembuatan *Sugar Dressing* dan Sediaan *Powder Kombinasi*

Gula pasir berwarna putih bersih dan kering diblender hingga menjadi serbuk halus, kemudian diayak menggunakan ayakan berukuran 100 *mesh* dan disimpan dalam wadah yang telah disiapkan. Pembuatan serbuk kombinasi dilakukan dengan mencampurkan *sugar dressing* dan simplisia daun cocor bebek melalui metode triturasi. Metode ini bertujuan untuk memperoleh campuran homogen dengan cara mencampurkan seluruh komponen secara merata menggunakan mortar dan pestle. Simplisia daun cocor bebek yang telah dihaluskan dicampurkan dengan *sugar dressing* dalam beberapa rasio perbandingan, yaitu 1:3, 1:1, dan 3:1, dengan bantuan mortar dan sendok pengaduk (Kalliantas et al., 2017).

2.4.5 Evaluasi Sediaan

Evaluasi sediaan dilakukan melalui beberapa parameter, meliputi pengujian kelembapan, laju alir, sudut istirahat, dan kompresibilitas. Pengujian kelembapan bertujuan untuk mengetahui kadar zat yang menguap akibat pemanasan dengan menggunakan *moisture analyzer*, yaitu dengan menimbang sebanyak 1 g serbuk, kemudian memasukkannya ke dalam alat hingga diperoleh persentase kelembapan yang tertera pada layar. Pengujian laju alir dilakukan menggunakan *flow tester* dengan memasukkan 25 g serbuk ke dalam alat, selanjutnya waktu yang dibutuhkan serbuk untuk mengalir dicatat menggunakan *stopwatch*. Sementara itu, pengukuran sudut istirahat bertujuan untuk menilai karakteristik aliran serbuk, yang dilakukan dengan menuangkan 25 g serbuk ke dalam *flow tester* hingga terbentuk kerucut, kemudian dilakukan pengukuran tinggi dan diameter kerucut tersebut (Ningrum et al., 2021).

2.4.6 Uji *In Vivo*

Hewan percobaan dibagi secara acak menjadi enam kelompok. Jumlah sampel dalam setiap kelompok serta total kelompok perlakuan dihitung berdasarkan rumus Federer.

Rumus Federer:

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

n= jumlah sampel perkelompok

t= jumlah kelompok perlakuan

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

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/5$$

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 3+1$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer, diperoleh total 24 ekor mencit yang dibagi dalam 6 kelompok. Setiap kelompok terdapat 4 ekor mencit yang digunakan dalam penelitian ini.

Tabel 1. Kelompok perlakuan uji *in vivo*

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

Sebelum dilakukan uji *in vivo*, hewan percobaan dianestesi menggunakan eter teknis yang ditetaskan pada kapas, kemudian dimasukkan ke dalam toples anestesi sebagai wadah untuk menidurkan mencit. Setelah mencit tidak sadar, rambut pada area punggung dicukur, lalu dibuat luka insisi dengan kedalaman 0,2 cm dan panjang 1,2 cm. Selanjutnya, *powder* kombinasi *sugar dressing* dan daun cocor bebek diberikan dengan cara menaburkannya pada area luka setiap pagi dan sore hari (Fadilah et al., 2022).

2.4.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit Mencit

Tahapan pembuatan preparat histopatologi kulit mencit sebagai berikut:

1. Jaringan kulit mencit pada area luka diambil, kemudian segera difiksasi dalam larutan formalin netral 10% selama ± 24 jam pada suhu ruang untuk mempertahankan struktur dan morfologi jaringan.
2. Jaringan yang telah difiksasi dicuci dengan air mengalir, kemudian didehidrasi menggunakan larutan alkohol bertingkat, yaitu alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut untuk menghilangkan kandungan air dalam jaringan.
3. Jaringan yang telah mengalami dehidrasi dilakukan proses clearing menggunakan xylol, kemudian diinfiltrasi dengan parafin cair pada suhu $\pm 56-60^{\circ}\text{C}$ dan ditanam dalam cetakan hingga membentuk blok parafin.
4. Blok parafin yang telah mengeras dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan irisan sekitar 4–5 μm , kemudian irisan jaringan ditempelkan pada kaca objek dan dikeringkan.

5. Preparat dideparafinisasi, direhidrasi, dan diwarnai menggunakan metode *hematoksilin-eosin* (HE), kemudian didehidrasi kembali, dilakukan clearing, dan ditutup dengan cover glass sebelum dilakukan pengamatan mikroskopis.

2.5 Pengamatan Kesembuhan Luka

Pengamatan kesembuhan luka didasarkan pada parameter perubahan histopatologi jaringan kulit yang telah dilakukan pewarnaan menggunakan *hematoksilin-eosin* (HE) kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x. Parameter kesembuhan luka dilakukan pada hari ke-7 dan 14 untuk melihat perubahan pada fase inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* terhadap kondisi luka (Galomat et al., 2021).

Tabel 2. Sistem penilaian untuk histopatologi kulit mencit

Kriteria Penilaian	Skor			
	0	1	2	3
Epitelisasi	Tidak ada	Sebagian	Lengkap, tapi belum matang atau tipis	Lengkap dan matang
Neovaskularisasi	Tidak ada	Hingga 5 pembuluh darah / HPF	6–10 pembuluh darah / HPF	Lebih dari 10 pembuluh darah / HPF
Jumlah jaringan granulasi	Tidak ada	Sedikit	Moderat	Banyak
Sel inflamasi	Tidak ada	Sedikit	Moderat	Banyak
Ulkus	Ulkus luas dan dalam, terdapat abses	Ulkus luas	Tidak ada atau sangat kecil	Tidak ada

Source: Yudhantoro et al., 2019. *Jurnal Veteriner*. 17 (4): 606-614. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/26568>

2.6 Analisis Data

Data yang didapatkan kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik menggunakan analisis ragam *Kruskal-Wallis* dengan menggunakan SPSS®26, dilanjutkan dengan analisis secara deskriptif untuk melihat perbedaan efek perlakuan antara kelompok mencit dari perbedaan perbandingan *powder* yang diberikan.