

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Vulnus laceratum atau luka laserasi. *Vulnus laceratum* adalah luka robek yang disertai dengan kehilangan jaringan yang minimum yang disebabkan oleh trauma benda tumpul. *Vulnus laceratum* juga merupakan luka yang berbentuk tidak beraturan akibat terkena benda tajam atau tumpul yang menembus kulit (Pratama dan Jayawardhita, 2021).

Secara umum, penanganan pada luka robek dapat dilakukan dengan jahitan (Erwin et al., 2019). Penjahitan luka dilakukan dengan menggunakan benang bedah bertujuan menyatukan agar mempercepat proses penyembuhan luka (Sudira et al., 2019). Akan tetapi, penanganan terhadap luka robek menggunakan benang bedah memiliki kekurangan khususnya pada hewan seperti mudah terbuka dan meningkatkan kerentanan infeksi pada luka akibat terkontaminasi oleh bakteri dari lingkungan luar maupun dari flora normal tubuh seperti *Staphylococcus aureus* (Arbi et al., 2019).

Kondisi tersebut mendorong perkembangan ilmu kedokteran hewan dan biomedis untuk mencari alternatif terapi luka yang lebih efektif, termasuk pemanfaatan bahan alami maupun kombinasi bahan farmakologis. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa bahan alami berpotensi menjadi pilihan yang menjanjikan karena mampu mempercepat penyembuhan luka sekaligus meminimalkan efek samping. Salah satu bahan yang sering digunakan adalah *sugar dressing*, yaitu terapi menggunakan gula pasir yang dihaluskan yang menghasilkan tekanan osmotik tinggi sehingga menghambat pertumbuhan bakteri, menyerap eksudat, serta mempercepat pembentukan jaringan granulasi (Ivanalee et al., 2018). Selain itu, gula pasir dapat mengurangi kelembapan pada permukaan luka, sehingga menghambat perkembangan bakteri. Mekanisme ini membantu membunuh bakteri melalui peningkatan rekrutmen makrofag ke area luka serta mempercepat proses peluruhan jaringan (Tahiruddin & Indriastuti, 2021).

Bahan alami lain yang memiliki potensi besar dalam penyembuhan luka adalah daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) (Megawati dan Oktarlina, 2023). Cocor bebek kaya akan senyawa fenolik, terutama kuersetin sebanyak 51,27% sebagai antiinflamasi (Reynaldi dan Yani, 2021). Senyawa fenolik lainnya seperti saponin, tanin dan alkaloid yang terdapat pada tanaman daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) memiliki antidiabetes, imunoregulasi, antikanker, dan antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan flora normal tubuh. Senyawa fenolik cenderung larut dalam air, umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida (Mahardani dan Yuanita, 2021). Penggunaan perbandingan *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek diperkirakan dapat memberikan efek sinergis dalam proses penyembuhan luka laserasi.

Salah satu indikator yang penting untuk menilai proses penyembuhan luka adalah jumlah leukosit dalam darah (Malaha et al., 2023). Leukosit berperan sebagai garis pertahanan pertama tubuh terhadap infeksi dan kerusakan jaringan (Sihombing et al., 2024). Peningkatan jumlah leukosit biasanya terjadi pada fase inflamasi penyembuhan luka, di mana sel-sel fagosit seperti neutrofil dan makrofag bermigrasi ke area luka untuk melakukan pembersihan jaringan nekrotik serta melawan mikroorganisme patogen (Ricardo dan Oktariana, 2024).

Pemantauan jumlah leukosit pada hewan model, seperti mencit, sering digunakan dalam penelitian karena memberikan gambaran mengenai respon imun tubuh terhadap adanya luka. Mencit merupakan hewan coba yang umum digunakan dalam penelitian biomedis karena memiliki sistem fisiologis yang relatif mirip dengan mamalia lain. Dengan demikian penelitian mengenai pengaruh perbandingan pemberian *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek terhadap perubahan jumlah leukosit mencit yang mengalami luka laserasi penting dilakukan. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan alternatif terapi luka yang lebih efektif, aplikatif, serta berpotensi untuk diterapkan dalam kedokteran hewan, khususnya dalam perawatan luka pada hewan yang rentan mengalami trauma fisik berupa luka laserasi atau *vulnus laceratum*.

1.2 Teori

1.2.1 Luka Laserasi

Luka merupakan kondisi hilangnya kontinuitas epitel dengan atau tanpa jaringan ikat dibawahnya sehingga menimbulkan kerusakan fungsi kulit yang bisa disebabkan oleh berbagai sebab (Naziyah et al., 2022). Dalam hal ini luka laserasi merupakan terputusnya kontinuitas jaringan sehingga terjadi pemisahan jaringan yang semula normal; luka robek terjadi akibat adanya kekerasan hebat yang memutuskan jaringan (Cahyaninggalih, 2025). Luka laserasi adalah luka robek dengan kehilangan jaringan yang relatif sedikit, biasanya terjadi akibat trauma dari benda tumpul. Luka ini memiliki bentuk tidak teratur dan dapat timbul akibat benturan benda tajam maupun tumpul yang menembus kulit hingga mencapai jaringan otot bagian dermis (Pratama dan Jayawardhita, 2021).

1.2.2 Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Untuk Perlukaan

Cocor bebek merupakan tumbuhan sukulen yang memiliki kemampuan unik dalam memproduksi tunas adventif sebagai bentuk reproduksi vegetatif, yang tumbuh pada bagian tepian daunnya (Dewanto dan Suhantono, 2016). Karakteristik ini menjadikan cocor bebek sebagai tanaman yang mudah berkembang biak, memiliki daya adaptasi tinggi, serta mampu bertahan pada berbagai kondisi lingkungan, baik di daerah tropis maupun subtropis. Selain keunikan morfologinya, cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) juga telah lama dikenal dan dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional oleh berbagai masyarakat sebagai tanaman obat serbaguna. Sejumlah penelitian ilmiah melaporkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas farmakologis yang luas, di antaranya sebagai antikanker, antidiabetes, antifungal, antimikroba, antiinflamasi, analgesik, antiulser, antiasma, antioksidan, serta memiliki efek sedatif terhadap sistem saraf (Sylvia et al., 2020). Keberagaman aktivitas biologis tersebut berkaitan erat dengan kandungan metabolit sekundernya, seperti saponin, flavonoid, dan tanin, yang berperan penting dalam memberikan efek terapeutik. Senyawa-senyawa bioaktif ini diketahui mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, menekan respon inflamasi, serta merangsang proliferasi sel dan pembentukan jaringan baru, sehingga berkontribusi secara signifikan dalam proses penyembuhan luka dan mendukung regenerasi jaringan secara optimal (Megawati dan Oktarlina, 2023).



Gambar 1. Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) (Tupsamidar et al., 2024).

1.2.3 Gula Pasir Dengan Metode *Sugardressing* Untuk Perlukaan

Gula merupakan salah satu jenis karbohidrat yang umumnya diperoleh dari tanaman tebu dan lebih dikenal sebagai gula pasir atau gula putih (Fadhillah et al., 2020). Kandungan utama gula yaitu sukrosa, memiliki kemampuan memberikan efek osmotik yang dapat memengaruhi aktivitas air pada luka sehingga membantu mengontrol pertumbuhan bakteri dengan menghambat proliferasi mikroorganisme yang sensitif terhadap kondisi hiperosmolar. Selain sebagai antimikroba pasif, sukrosa juga berperan dalam mendukung proses penyembuhan luka melalui stimulasi sekresi TGF- α , yang kemudian menarik makrofag ke area luka serta mengekspresikan reseptor integrin $\alpha 2$ dan $\beta 1$. Kedua reseptor ini memiliki fungsi penting dalam mendukung proliferasi fibroblas, meningkatkan deposisi matriks ekstraseluler, serta memperkuat sintesis kolagen sebagai komponen utama penyusun jaringan granulasi.

Lebih lanjut, TGF- α yang bekerja sebagai reseptor dari EGF berperan sebagai aktivator dalam proses sintesis kolagen dan modulasi regenerasi jaringan, sehingga berkontribusi pada percepatan perbaikan luka. Dengan demikian, sukrosa tidak hanya berfungsi sebagai agen osmotik, tetapi juga berperan aktif dalam memperkuat fase proliferasi melalui stimulasi sel imun dan sel penyusun jaringan (Ivanalee et al., 2018).

1.2.4 Leukosit

Leukosit adalah sel yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh utama terhadap agen infeksi melalui proses fagositosis serta berperan penting dalam menjaga imunitas terhadap cedera jaringan. Sel ini bekerja dengan melindungi tubuh dari berbagai penyakit melalui mekanisme fagositosis maupun dengan menghasilkan antibodi. Secara umum, fungsi utama leukosit adalah mempertahankan sistem imun, namun setiap fraksinya memiliki mekanisme kerja yang berbeda. Monosit, misalnya, akan berdiferensiasi menjadi makrofag yang berfungsi menelan dan menghancurkan sel rusak, mikroorganisme, maupun benda asing yang bersifat patogen. Sementara itu, eosinofil menjalankan perannya melalui mekanisme kimiawi, yaitu melisis patogen secara enzimatis.

Perubahan jumlah leukosit dalam sirkulasi, baik peningkatan maupun penurunan, mencerminkan ketanggapan sistem imun dalam menghadapi agen penyakit serta proses peradangan (Aristoteles dan Puspitasari, 2023). Dalam konteks penyembuhan luka, leukosit tidak hanya berfungsi sebagai garis pertahanan

terhadap infeksi, tetapi juga berperan penting dalam mengoordinasikan tahapan penyembuhan. Berbagai jenis leukosit seperti neutrofil, limfosit, monosit, basofil, dan eosinofil berkontribusi sesuai perannya pada fase awal penyembuhan. Ketika jaringan mengalami kerusakan, perdarahan yang terjadi akan memicu aktivasi sel-sel imun, menandai dimulainya fase inflamasi. Fase ini menjadi krusial untuk memastikan proses penyembuhan berlangsung normal melalui mekanisme angiogenesis, perbaikan jaringan rusak, dan remodeling jaringan. Walaupun respons inflamasi berlangsung relatif singkat, tahap ini sangat menentukan karena rekrutmen dan aktivasi sel progenitor mesenkim sangat bergantung pada efektivitas proses inflamasi tersebut. Dengan demikian, leukosit berperan sebagai komponen utama yang menghubungkan respons imun tubuh dengan mekanisme regenerasi jaringan selama penyembuhan luka (Nurjunitar et al., 2022).

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang tepat dalam penyembuhan luka laserasi pada mencit, serta mengetahui efektivitas perbandingan pemberian *powder* *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dalam mempercepat penyembuhan luka laserasi yang ditinjau dari perubahan jumlah leukosit sebagai indikator keberhasilan.

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memperkaya pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya mengenai formulasi perbandingan *sugar dressing* dan daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dalam penyembuhan luka, serta memberikan data ilmiah terkait efektivitasnya yang ditinjau dari perubahan jumlah leukosit sebagai indikator keberhasilan. Selain sebagai dasar bagi penelitian lanjutan di bidang kedokteran hewan dan biomedis, hasil penelitian ini juga menawarkan alternatif perawatan luka laserasi dengan bahan yang mudah diperoleh, relatif murah, dan aman, yang dapat dimanfaatkan oleh praktisi medis veteriner maupun pemilik hewan, serta membuka peluang pengembangan produk herbal modern untuk bidang kesehatan hewan dan manusia.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Riset dilaksanakan secara eksperimental selama kurang lebih 3 bulan dari bulan Mei-Juli 2024 secara luring dengan tetap memperhatikan keselamatan kerja di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan berupa aluminium klorida ($AlCl_3$), akuades, alkohol 70%, cairan fisiologis NaCl, daun cocor bebek, dragendorf, $FeCl_3$, gula pasir, mencit bobot > 35g, *eter alkohol*, kapas, NBF 10%, dan tissue. Alat yang digunakan berupa satu set alat bedah minor, batang pengaduk, kandang, kapas, underpad, gelas beaker 500 mL dan 250 mL, gelas ukur 100 mL, gunting, *handscoon*, tabung edta, ayakan 100 mesh, lumpang, sendok pengaduk, alu, oven, wadah, blender, timbangan digital, kertas perkamen, *stopwatch*, *hematology analyzer*, *rotary evaporator*, spuit 1 cc dan 3 cc, nampun, pinset, kertas saring, dan kamera.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan kuantitatif yang dilakukan secara *in vivo* menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus*) untuk mengevaluasi pengaruh perbandingan pemberian pemberian *powder sugar dressing* dan serbuk daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap proses penyembuhan luka laserasi yang ditinjau dari perubahan jumlah leukosit. Rancangan penelitian menggunakan *true experimental design* dengan metode *simple random sampling*, melibatkan enam kelompok perlakuan yang terdiri atas tiga kelompok dengan perbandingan komposisi *sugar dressing* dan serbuk daun cocor bebek (1:3, 1:1, dan 3:1), satu kelompok kontrol positif (*sugar dressing* saja), dan satu kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), dengan waktu pengamatan pada hari ke-3, ke-7, dan ke-14 pasca induksi luka. Penentuan jumlah sampel didasarkan pada Setiap waktu pengambilan dianggap sebagai kelompok tersendiri, sehingga jumlah kelompok untuk perhitungan rumus Federer menjadi $t = 6 \times 3 = 18$, yang menunjukkan jumlah minimum ulangan yang diperlukan agar data layak dianalisis secara statistik.

Rumus Federer: $(n - 1)(t - 1) \geq 15$

n = jumlah sampel perkelompok

t = jumlah pengelompokan

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

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

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

$$17n - 17 \geq 15$$

$$17n \geq 15 + 17$$

$$n \geq 32/17$$

$$n \geq 1,88$$

Dari hasil tersebut, jumlah minimal hewan coba per kelompok dibulatkan menjadi 2 ekor mencit tetapi untuk mengurangi bias digunakan 3 ekor mencit per pengambilan sampel sehingga total yang digunakan 54 ekor mencit jantan dengan bobot rata-rata 35 g yang dibagi secara acak ke dalam enam kelompok perlakuan. Seluruh hewan uji menjalani aklimatisasi selama tujuh hari di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin sebelum perlakuan, kemudian diberikan aplikasi sediaan setiap 12 jam selama 14 hari. Pengamatan jumlah leukosit dilakukan melalui pengambilan darah intraorbital pada hari ke-3, ke-7, dan ke-14 yang selanjutnya dianalisis menggunakan *hematology analyzer*. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, dan seluruh prosedur penelitian telah dilaksanakan sesuai dengan pedoman *Animal Welfare* serta memperoleh persetujuan etik penggunaan hewan uji.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Pengurusan Berkas *Ethical Clearance* (EC)

Pengurusan berkas *Ethical Clearance* (EC) dilakukan sebelum pelaksanaan pengujian menggunakan hewan coba. *Ethical Clearance* merupakan pernyataan tertulis dari Komisi Etik Penelitian yang menyatakan bahwa suatu penelitian yang melibatkan makhluk hidup layak dilaksanakan setelah memenuhi persyaratan etis yang ditetapkan (Wahyuardani et al., 2020). Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik oleh komisi etik penelitian Universitas Hasanuddin dengan nomor 337/UN4.6.4.5.31/PP36/2024.

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

Daun cocor bebek (*Kalanchoe Pinnata*) diambil dari Jl. H. Kalla, Panai kang Kec. Panakkukang, Kota Makassar. Daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang telah diperoleh selanjutnya mengalami proses sortasi basah untuk memisahkan bagian daun yang rusak, berubah warna, atau terkontaminasi kotoran agar hanya bahan berkualitas baik yang digunakan. Setelah proses sortasi, daun yang memenuhi kriteria kemudian dipisahkan dari ranting dan tangkai, dilanjutkan dengan pencucian menggunakan air mengalir hingga benar-benar bersih guna menghilangkan sisa tanah, debu, dan partikel lain yang dapat mengganggu kualitas bahan baku. Daun yang telah bersih kemudian dirajang menjadi potongan kecil agar proses pengeringan berjalan lebih cepat dan merata. Proses pengeringan dilakukan di dalam oven dengan suhu 40°C selama 96 jam hingga daun menjadi kering sempurna. Pemilihan suhu ini bertujuan untuk mempertahankan stabilitas senyawa aktif yang bersifat termolabil, seperti flavonoid berupa kuersetin, alkaloid, dan senyawa fenolik yang terdapat pada daun cocor bebek (Sylvia et al., 2020). Kemudian, simplisia disortasi kering dan menggunakan blender untuk menjadi serbuk. Selanjutnya, hasil simplisia diayak menggunakan ayakan 100 mesh untuk mendapatkan ukuran yang seragam (Sylvia dan Pratiwi, 2020).

2.4.3 Ekstraksi dan Skrining Fitokimia Daun Cocor Bebek

Beberapa daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang telah melalui proses pengeringan selanjutnya digunakan untuk tahap ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi, yaitu metode perendaman simplisia dalam pelarut tanpa pemanasan, sehingga mampu mempertahankan kestabilan senyawa bioaktif yang mudah rusak pada suhu tinggi (Ilmi et al., 2022). Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 mL dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10. Pelarut etanol 70% dipilih karena bersifat semi-polar, sehingga efektif melarutkan berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, dan tanin yang diketahui terkandung dalam daun cocor bebek (Razoki et al., 2023). Selama proses maserasi, wadah ekstraksi ditutup rapat dan dibiarkan selama 72 jam sambil sesekali diaduk untuk meningkatkan kontak antara pelarut dan bahan, sehingga senyawa aktif dapat terekstraksi secara optimal (Amin, 2023).

Setelah tahap pertama selesai, dilakukan remaserasi sebanyak satu kali selama 24 jam dengan pelarut yang sama untuk memastikan seluruh senyawa metabolit sekunder dapat terekstraksi secara maksimal. Setiap hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas, kemudian semua filtrat digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu rendah untuk menghilangkan pelarut. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dioven pada suhu 50°C hingga menjadi ekstrak pekat daun cocor bebek. Ekstrak tersebut selanjutnya digunakan untuk tahap skrining fitokimia, yang meliputi uji kandungan alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, uji saponin dengan perlakuan pemanasan dan penambahan HCl 2 N, serta uji tanin menggunakan pereaksi FeCl₃, guna mengidentifikasi keberadaan golongan metabolit sekunder utama pada ekstrak daun cocor bebek (Meilia et al., 2022).

2.4.4 Pembuatan dan Formulasi Perbandingan Sediaan *Powder* Daun Cocor Bebek dan *Sugar Dressing*

Disisi lain beberapa daun cocor bebek kering yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk halus atau serbuk simplisia. Selanjutnya, serbuk simplisia diayak menggunakan ayakan berukuran 100 *mesh* untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam. Proses pengayakan ini penting agar partikel memiliki distribusi yang homogen, sehingga mempermudah proses ekstraksi dan menjamin konsistensi hasil pada tahap formulasi sediaan (Sylvia et al., 2020).

Bahan tambahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa gula pasir yang berfungsi sebagai *sugar dressing*. Pemilihan gula pasir dilakukan dengan memperhatikan karakteristik fisik seperti warna yang cerah, tekstur yang kering, serta tidak menggumpal, karena kualitas tersebut menunjukkan rendahnya kadar air dan kotoran yang dapat memengaruhi kestabilan sediaan (Fajarwati et al., 2017). Gula pasir yang terpilih kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk halus untuk mempermudah proses pencampuran dengan simplisia daun cocor bebek. Setelah itu, serbuk gula diayak menggunakan ayakan berukuran 100 *mesh* agar diperoleh ukuran partikel yang seragam, sehingga dapat menghasilkan campuran yang homogen dan tekstur akhir sediaan yang lebih halus. Serbuk gula hasil pengayakan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk menghindari penyerapan kelembapan udara yang dapat menyebabkan penggumpalan (Tungadi, 2017).

Proses pembuatan perbandingan sediaan *powder* daun cocor bebek dan *sugar dressing* dilakukan dengan metode tritulasi, yaitu teknik pencampuran bahan padat secara menyeluruh menggunakan mortar dan pestle hingga diperoleh campuran yang homogen (Perangin-angin et al., 2015). Metode ini dipilih karena mampu menghasilkan pencampuran yang merata antar bahan, menjaga kestabilan komponen aktif, serta mempertahankan sifat fisik bahan tanpa paparan panas berlebih. Pada tahap ini, serbuk simplisia daun cocor bebek dan serbuk gula pasir dicampur dalam beberapa perbandingan, yaitu 1:3, 1:1, dan 3:1, untuk memperoleh perbandingan formulasi yang paling optimal dalam hal homogenitas, kestabilan, dan karakteristik fisik sediaan (Kalliantas et al., 2017).

2.4.5 Evaluasi Sediaan

Evaluasi terhadap sediaan *powder* dilakukan melalui serangkaian pengujian yang meliputi uji kelembapan, laju alir, dan sudut istirahat dengan tujuan untuk memastikan kualitas fisik serta kestabilan sediaan sebelum digunakan dalam penelitian lebih lanjut. Sifat fisik *powder* sangat memengaruhi kemudahan aplikasi, daya sebar, dan kestabilan selama penyimpanan, sehingga hasil pengujian menjadi indikator awal kelayakan formulasi. Uji kelembapan bertujuan untuk mengetahui kadar air atau zat yang mudah menguap dalam sediaan saat dipanaskan. Kandungan air yang terlalu tinggi dapat meningkatkan risiko penggumpalan dan pertumbuhan mikroba, sedangkan kadar air yang terlalu rendah dapat membuat serbuk menjadi rapuh. Pengujian dilakukan menggunakan *moisture analyzer*, di mana 1 gram serbuk dipanaskan hingga diperoleh persentase kelembapan pada layar alat. Nilai kelembapan yang stabil menunjukkan bahwa sediaan memiliki kestabilan fisik yang baik dan aman disimpan. Selanjutnya, pengujian laju alir dilakukan untuk menilai kemampuan serbuk mengalir secara bebas, yang penting dalam menentukan konsistensi dosis dan homogenitas sediaan. Sebanyak 25 gram *powder* dimasukkan ke dalam *flow tester*, lalu dicatat waktu alirnya menggunakan *stopwatch*. Semakin cepat waktu alir, semakin baik sifat alir serbuk tersebut. Laju alir yang baik menunjukkan ukuran partikel seragam dan stabilitas formulasi yang optimal. Uji sudut istirahat dilakukan untuk melengkapi penilaian sifat alir serbuk. Sebanyak 25 gram *powder* dimasukkan ke dalam *flow tester* hingga terbentuk tumpukan berbentuk kerucut. Diameter dan tinggi kerucut diukur untuk menghitung sudut istirahat (*angle of repose*). Nilai ini menggambarkan kemampuan serbuk mengalir secara spontan semakin kecil sudutnya, semakin baik sifat alirnya (Ningrum et al., 2021).

Secara keseluruhan, hasil pengujian ini memberikan gambaran mengenai karakteristik fisik perbandingan *powder sugar dressing* dan daun cocor bebek, yang menjadi dasar dalam menentukan formulasi terbaik dengan kestabilan dan kemampuan alir yang optimal (Ningrum et al., 2021).

2.4.6 Uji *In Vivo*

Setelah proses aklimatisasi selama tujuh hari selesai, tahap uji *in vivo* dilaksanakan untuk mengevaluasi respons penyembuhan luka pada masing-masing kelompok perlakuan. Prosedur dimulai dengan pemberian anestesi menggunakan senyawa eter agar mencit berada dalam kondisi tidak sadar, sehingga meminimalkan rasa nyeri dan stres selama tindakan berlangsung. Setelah hewan benar-benar tidak memberikan respons nyeri, area punggung yang menjadi lokasi perlakuan dicukur

dengan hati-hati untuk memastikan permukaan kulit bersih, bebas bulu, dan mudah diamati selama proses pembuatan luka maupun saat pemantauan berikutnya.

Pembuatan luka dilakukan menggunakan teknik insisi dengan model laserasi, di mana luka dibuat tidak beraturan untuk menyerupai kondisi luka robek alami. Luka dibuat dengan kedalaman kurang lebih 0,2 cm dan panjang sekitar 1,2 cm. Setelah luka terbentuk, setiap mencit segera diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing berupa pemberian sediaan dengan perbandingan *powder* sesuai perlakuan yang telah ditentukan, dengan frekuensi aplikasi setiap 12 jam sekali untuk menjaga konsistensi dosis dan efektivitas perlakuan (Fadilah et al., 2022).

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Uji *in Vivo*

Kelompok	Perlakuan
K-	Tanpa Perlakuan
K+	Pemberian <i>Sugar Dressing</i>
P1	Pemberian <i>Powder</i> Daun Cocor Bebek
P2	Pemberian <i>Sugar Dressing</i> Dan <i>Powder</i> Daun Cocor Bebek Perbandingan 1:3
P3	Pemberian <i>Sugar Dressing</i> Dan <i>Powder</i> Daun Cocor Bebek Perbandingan 1:1
P4	Pemberian <i>Sugar Dressing</i> Dan <i>Powder</i> Daun Cocor Bebek Perbandingan 3:1

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

Penilaian efektivitas dapat dilakukan melalui pemeriksaan profil leukogram menggunakan *hematology analyzer* pada hari ke-3, 7, dan 14 untuk menggambarkan dinamika penyembuhan sesuai fase fisiologisnya, yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Perubahan jumlah leukosit pada leukogram, khususnya neutrofil, limfosit, dan monosit, menjadi indikator penting terhadap respons imun serta aktivitas perbaikan jaringan. Pada fase inflamasi (hari ke-1 hingga 3), neutrofil dan makrofag berperan membersihkan jaringan yang rusak dan mencegah infeksi. Tahap ini berlanjut ke fase proliferasi (hari ke-3 hingga 7) yang ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, angiogenesis, dan aktivitas fibroblas dalam sintesis kolagen. Selanjutnya, fase remodeling (hari ke-14) merupakan periode reorganisasi jaringan granulasi, peningkatan deposisi kolagen, dan peningkatan kekuatan tarik kulit sehingga struktur jaringan kembali mendekati normal (Galomat et al., 2021). Data yang diperoleh dari profil leukogram kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menilai perbedaan efek perlakuan antar kelompok berdasarkan variasi konsentrasi *powder* yang diberikan dan juga dianalisis dengan menggunakan uji statistik *one way ANOVA* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata rata leukosit antar perlakuan.