

Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Daun Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Terhadap Kepadatan Kolagenisasi dan Gambaran Histopatologi Jaringan Kulit Pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Tikus Putih Galur Wistar Jantan

The Effect of Administration of Bean Leaf Extract Gel (*Phaseolus vulgaris* L.) on Collagenesis Density and Histopathological Features of Skin Tissue in the Wound Healing Process of Male Wistar Strain White Rats

Ayu Agustin⁽¹⁾, Syamsul Arifin Nasution^(2*) & Ivonne⁽³⁾

Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Indonesia

Disubmit: 12 Januari 2025; Direview: 13 Mei 2025; Diaccept: 26 Mei 2025; Dipublish: 07 Juni 2025

*Corresponding author: syamsularifinnasution@unprimdn.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian gel ekstrak daun buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) terhadap kepadatan kolagenisasi dan gambaran histopatologi jaringan kulit pada proses penyembuhan luka bakar tikus putih galur Wistar jantan. Luka bakar dapat menyebabkan kerusakan pada kulit yang memerlukan proses penyembuhan yang melibatkan sintesis kolagen dan perbaikan struktur jaringan kulit. Ekstrak daun buncis diketahui mengandung senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai agen penyembuhan luka. Dalam penelitian ini, tikus putih galur Wistar jantan dibagi menjadi beberapa kelompok perlakuan, dengan pemberian gel ekstrak daun buncis pada kelompok perlakuan. Setelah perlakuan, dilakukan analisis histopatologi jaringan kulit untuk menilai kepadatan kolagen dan perubahan morfologi kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun buncis dapat meningkatkan kepadatan kolagen dan mempercepat proses penyembuhan luka bakar yang tercermin dari gambaran histopatologi jaringan kulit yang lebih baik. Temuan ini menunjukkan potensi ekstrak daun buncis sebagai agen terapi dalam penyembuhan luka bakar.

Kata Kunci: Gel Ekstrak Daun Buncis; Kepadatan Kolagen; Histopatologi; Jaringan Kulit; Penyembuhan Luka Bakar.

Abstract

*This study aims to investigate the effect of administration of bean leaf extract gel (*Phaseolus vulgaris* L.) on collagen density and histopathological features of skin tissue in the wound healing process of male Wistar strain white rats with burn injuries. Burn wounds can cause damage to the skin, requiring a healing process that involves collagen synthesis and tissue structure repair. Bean leaf extract is known to contain active compounds with potential as a wound healing agent. In this study, male Wistar rats were divided into several treatment groups, with the administration of bean leaf extract gel in the treatment group. After treatment, histopathological analysis of the skin tissue was conducted to assess collagen density and morphological changes in the skin. The results showed that the administration of bean leaf extract gel increased collagen density and accelerated the burn wound healing process, as reflected in the improved histopathological features of the skin tissue. These findings suggest the potential of bean leaf extract as a therapeutic agent in burn wound healing.*

Keywords: Bean Leaf Extract Gel; Collagen Density; Histopathology; Skin Tissue; Burn Wound Healing.

DOI: <https://doi.org/10.51849/j-p3k.v6i2.615>

Rekomendasi mensitasi :

Agustin, A., Nasution, S. A. & Ivonne. (2025), Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Daun Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Terhadap Kepadatan Kolagenisasi dan Gambaran Histopatologi Jaringan Kulit Pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Tikus Putih Galur Wistar Jantan. *Jurnal Penelitian Pendidikan, Psikologi dan Kesehatan (J-P3K)*, 6 (2): 409-422.

PENDAHULUAN

Kulit merupakan organ penghalang yang memisahkan tubuh dari lingkungan luar. Berbagai jenis sel kekebalan ada di dalam kulit atau direkrut untuk mempertahankan homeostasis karena berbagai gangguan fisik, kimia, dan mikroba mempengaruhi kulit. Kulit melakukan banyak hal, seperti mencegah patogen dan kehilangan air serta melindungi dari radiasi termal, kimia, dan ultraviolet. Melalui berbagai ujung saraf, kulit mensintesis vitamin D, mengatur suhu tubuh, dan meningkatkan fungsi metabolisme. (Adhisa., 2020).

Luka adalah kerusakan jaringan yang dapat disebabkan oleh perubahan suhu, zat kimia, sengatan listrik, benda tajam atau tumpul, atau gigitan hewan (Hakim, 2021). Luka dapat menyebabkan kehilangan fungsi organ secara keseluruhan atau sebagian, pendarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, dan kematian sel (Anggowarsito, 2014). Tubuh berusaha untuk mengembalikan integritas struktural dan fungsionalnya setelah cedera dalam proses penyembuhan luka (Hartawan, 2013).

Berbagai macam obat tradisional dapat digunakan untuk menyembuhkan luka, termasuk ekstrak daun buncis yang digunakan secara tradisional untuk menyembuhkan luka, kumur untuk sakit tenggorokan, batuk, malaria, antimikroba, sakit kepala, antidiare, astringent, antispasmodik, antihipertensi, anti inflamasi, dan diuretic (Loarcapina, 2002). Sintesis kolagen adalah bagian penting dari proses penyembuhan luka. Kolagen berbagai fungsi, termasuk hemostasis, hubungan dengan trombosit, hubungan dengan fibronektin, peningkatan eksudat

cairan, peningkatan komponen seluler, peningkatan faktor pertumbuhan, dan mendorong proses fibroplasia dan proliferasi epidermis (Giri, 2021).

Kolagen sangat penting untuk fase penyembuhan luka. Agregasi dan aktivasi trombosit terjadi ketika kolagen fibriler dimasukkan ke dalam darah. Kemudian faktor kemotaksis dilepaskan, yang memulai proses penyembuhan luka. Untuk menarik fibroblas ke area yang terluka, fragmentasi kolagen melepaskan kolagenase leukositik. Kolagen berfungsi sebagai dasar matrik ekstraseluler yang baru. Rasio antara sintesis kolagen dan degradasi kolagen oleh enzim menentukan akumulasi kolagen di daerah luka. Pada tahap awal penyembuhan luka, degradasi kolagen rendah. Namun, seiring perkembangan luka, degradasi kolagen akan meningkat (Giri, 2021).

Proses yang kompleks yang mencakup pemulihan integritas struktural dan fungsional melalui kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi secara berkesinambungan dikenal sebagai penyembuhan luka. Proses ini mencakup inflamasi, kontraksi luka, reepitelisasi, perubahan jaringan, dan pembentukan jaringan granulasi melalui angiogenesis (Farida, 2016). Pengobatan tanaman herbal merupakan alternatif untuk penyembuhan luka karena mudah diakses dan tidak menimbulkan efek samping. Jika tidak ada konflik antara aspek buruk dan baik pada penyembuhan luka, maka penyembuhan luka dapat dikatakan tercapai secara optimal. Ada beberapa tahap dalam penyembuhan luka ini, seperti fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi (Sumbayak, 2015).

Luka bakar adalah kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan oleh kontak langsung dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik, atau radiasi. Luka bakar dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah, jaringan epidermis, otot, dan tulang. Luka bakar bervariasi dalam beratnya, bergantung pada seberapa lama dan seberapa banyak kulit yang terbakar. Luka bakar yang berwarna merah pada kulit menyebabkan kerusakan paling ringan; kerusakan yang lebih parah terjadi ketika seluruh kulit terbakar sehingga terlihat daging, dan yang paling parah terjadi ketika otot-otot juga terbakar. Jadi, jika seseorang terkena luka bakar dan tidak diobati, itu dapat menyebabkan infeksi dan memperlambat penyembuhan luka (Rahayu, 2021).

Pengobatan luka bakar menggunakan sediaan gel dengan kandungan zat aktif yang berasal dari zat kimia sintesis yang beredar dipasaran seringkali memberi efek samping iritasi pada kulit, gatal dan bengkak. Adapun efek samping tersebut maka masyarakat beralih ke pembuatan dengan zat aktif dari bahan alam. (Putri, 2014). Salah satu cara penanganan pada penderita luka bakar yaitu mengobati luka dengan menggunakan sediaan topikal. Pemberian sediaan topikal yang tepat dan efektif diharapkan dapat mengurangi dan mencegah infeksi pada luka. Bentuk sediaan topical yang dapat dengan mudah digunakan untuk pengobatan pada luka bakar salah satunya adalah sediaan gel (Ulviani *et al.*, 2016). Gel adalah sistem semisolid yang merupakan suspensi yang dibangun oleh molekul besar organik atau partikel anorganik halus yang diinterpenetrasi oleh suatu cairan

(Suherman *et al.*, 2021). Gel adalah sistem semi padat yang terdiri dari suspensi yang terpenetrasi oleh cairan yang terdiri dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar (Depkes RI, 1995). Gel memiliki beberapa keuntungan, seperti tidak lengket, memiliki aliran tiksotropik dan pseudoplastik, berbentuk padat saat disimpan dan akan mencair saat dikocok, membutuhkan konsentrasi bahan pembentuk gel yang rendah untuk membentuk massa gel yang besar, dan viskositas gel tidak berubah secara signifikan ketika disimpan (Lieberman *et al.*, 2018).

Daun buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) adalah salah satu tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, dan masyarakat telah menggunakannya sebagai obat tradisional sejak lama (Rukmana, 2001). Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa penggunaan daun kelor, baik secara topikal maupun oral, dapat membantu penyembuhan luka. Beberapa penelitian ilmiah menunjukkan bahwa tumbuhan ini efektif dalam mengobati berbagai penyakit. Daun buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) adalah salah satu tanaman yang telah ditunjukkan memiliki sifat antiinflamasi. Dalam beberapa hasil skrining fitokimia tanaman buncis, terdapat senyawa tanin, flavonoid, dan saponin (Sihombing, 2009). Senyawa flavonoid dapat membantu penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan kolagen, mengurangi edema jaringan, dan meningkatkan jumlah fibroblas. Kandungan tumbuhan kelor lainnya, seperti senyawa glukosianat dan isotiosianat, diketahui memiliki sifat hipotensif, anti-kanker, dan menghentikan aktivitas bakteri dan jamur (Saputra 2020).

Menurut penelitian berbagai faktor pertumbuhan dan sel inflamasi diperlukan dalam proses penyembuhan. Faktor-faktor ini memengaruhi setiap fase penyembuhan dan berdampak pada satu sama lain. Serabut kolagen yang disintesis oleh fibroblas sangat penting untuk proses penyembuhan luka, sehingga sering digunakan sebagai biomarker dalam proses penyembuhan luka dan telah digunakan sebagai indikator dalam berbagai studi (Winarsih, 2017). Studi (Jannah, 2013) menemukan bahwa pemberian gel daun buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) dengan konsentrasi 9% lebih baik daripada povidone iodine, yang sebelumnya digunakan untuk membantu penyembuhan luka pada mencit. Penelitian yang dilakukan (Dzomba, 2013) menyatakan bahwa selain memiliki kemampuan penyembuhan luka, ekstrak daun buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) juga memiliki sifat anti bakteri yang membentuk zona hambat.

Berdasarkan hal tersebut penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai Uji Efektivitas sediaan Gel dari Ekstrak Daun Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka bakar pada tikus putih galur wistar mencit dan histopatologi jaringan kulit pada proses penyembuhan luka bakar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dilengkapi penelitian analitik dengan desain penelitian eksperimen dan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*, yaitu jenis penelitian yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara variabel terikat dengan variabel

bebas dan juga melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi suatu tindakan. Peneliti memilih tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai subjek uji penelitian karena hewan ini memiliki karakteristik dan fisiologi yang hampir sama dengan manusia dan juga menjadi salah satu hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian ilmu biomedis. Tikus putih juga memiliki kemampuan yang baik dalam menyesuaikan diri di lingkungan laboratorium.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian kandungan dan uji fitokimia ekstrak daun buncis dilakukan di Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Sampel yang digunakan adalah ekstrak daun buncis. Skrining fitokimia merupakan metode pengujian awal untuk menentukan kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan sehingga pada penelitian ini dapat digunakan sebagai antioksidan dan antipenuaan. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat kandungan senyawa antipenuaan pada gel ekstrak daun buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) yang dapat mempengaruhi kulit pada tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami luka bakar. Adapun hasil uji fitokimia ekstrak daun buncis dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Buncis

Metabolit Sekunder	Hasil
Alkaloid	+
Tanin	+
Flavanoid	+
Glikosida	+
Steroid/Triterpenoid	+

Sumber: data hasil penelitian.

Dari tabel 1 di atas dapat diamati bahwa kandungan senyawa atau zat kimia yang ada pada ekstrak daun pegagan adalah alkanoid, flavonoid, saponin. Tannin, steroid/interpenoid.

Uji alkaloid, ekstrak buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebanyak 2gram dimasukkan kedalam tabung reaksi ditetesi dengan 5mL HCl 2 N dipanaskan kemudian didinginkan lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing 1 mL. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penelitian ini hasil uji alkaloid yaitu kuning yang maknanya positif mengandung alkaloid.



Gambar 1. Hasil Uji Kandungan Alkaloid

Sebanyak 1gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit kemudian filtratnya ditambahkan FeCl_3 3-4 tetes, jika berwarna hijau biru (hijau-hitam) berarti positif adanya tanin katekol sedangkan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tannin pirogalol. Dari hasil pengamatan uji fitokimia didapatkan warna hijau biru (hijau-hitam) berarti positif adanya tanin katekol.



Gambar 2. Hasil Uji Kandungan Tanin

Sebanyak 2gram ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu

ditambahkan dengan 2 mL etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plat tetes dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan 2 tetes asam asetanhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna merah atau kuning berarti positif terpenoid. Apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid. Dari hasil uji fitokimia daun pegagan mengandung positif steroid.



Gambar 3. Hasil Uji Kandungan Steroid

Ekstrak kental 1 mL daun pegagan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan serbuk Magnesium 2mg dan 3 tetes HCl pekat. Kemudian terlihat atau terbentuknya warna jingga dan kuning (gambar 3) pada larutan, hasil reaksi larutan ini menunjukkan adanya flavonoid. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi merah, kuning, jingga, pada lapisan amil.



Gambar 4. Hasil Uji Kandungan Flavanoid

Pengambilan sampel kulit/jaringan dilakukan pada hari ke 16 yang sebelumnya tikus dikorbankan dengan di inhalasi menggunakan kloroform, daerah punggung yang akan diambil kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh

kembali, kulit digunting dengan ketebalan ± 3 mm sampai dengan *subcutan* dan sepanjang 2,5 cm (Nanda et al., 2017).

Sampel jaringan diwarnai dengan pewarnaan *haematoxylin* selama 5 menit dan dibilas menggunakan air mengalir selama 10 menit. Kemudian sampel diwarnai dengan pewarnaan *eosin* selama 2 menit dan dilanjutkan dengan memasukkan sampel ke dalam larutan alkohol bertingkat, dilakukan clearing dengan silol dan diakhiri dengan penutupan slide jaringan dengan kaca penutup yang telah terlapiasi bahan perekat.

Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* berwarna merah yang diamati dengan mikroskop cahaya yang terhubung dengan kamera digital dan menggunakan software *OptiLab Viewer 2.2*. Preparat diamati dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapang pandang. Penyimpanan gambar dilakukan dengan menekan icon kamera pada taskbar software *OptiLab Viewer 2.2* (Chen dkk., 2017).

Gambar yang telah didapatkan kemudian disimpan dan diolah menggunakan software *Image J*. Ketebalan kolagen dihitung dengan melakukan selection pada area serabut yang berwarna merah sampai terpulas secara keseluruhan. Untuk persentase kepadatan kolagen dalam satu area dipilih menu *analyze particle*. Parameter yang didapatkan dalam bentuk persentase luas area (%). Gambaran dan data hasil pengamatan dapat disimpan dalam file (Chen dkk., 2017).

Hasil uji kepadatan kolagen dengan menggunakan software *image J* pada masing-masing kelompok tikus percobaan tersaji dalam tabel berikut ini.

Tabel 2 Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Jaringan Kulit Tikus

Pengulangan	KN	P1	P2	P3
1	41,937	44,937	50,292	56,292
2	38,988	46,988	50,995	57,995
3	46,348	47,348	48,695	52,695
4	45,784	48,784	48,485	50,485
5	44,816	46,816	52,675	55,675
6	46,455	48,455	55,895	54,895
Skor	+2	+2	+3	+3
Mean	35,88	36,590	51,173	54,673
SD	0,736	1,324	2,429	2,865

Keterangan :

K = kontrol negatif (hanya pemberian gel placebo)

P1 = pemberian gel ekstrak daun buncis dosis 4 %

P2 = pemberian gel ekstrak daun buncis dosis 6%

P3 = pemberian gel ekstrak daun buncis dosis 8%

Dari data pada tabel 2 diatas dapat diamati bahwa rata-rata persentase kepadatan kolagen pada kelompok tikus kontrol dengan gek placebo apapun adalah $35,88 \pm 0,736$. Rata-rata persentase kepadatan kolagen pada kelompok tikus perlakuan I (P1) yaitu yang mengalami luka bakar dan diberi gel ekstrak daun buncis dosis 15 % adalah $36,590 \pm 1,324$. Rata-rata persentase kepadatan kolagen pada kelompok tikus perlakuan II (P2) yaitu mengalami luka bakar dan diberi gel ekstrak daun buncis dosis 20% adalah $51,173 \pm 2,429$. Rata-rata persentase kepadatan kolagen pada kelompok tikus perlakuan III (P3) yaitu yang mengalami luka bakar dan diberi gel ekstrak daun buncis 25% adalah $54,673 \pm 2,865$.

Berdasarkan data yang diamati tersebut dapat disimpulkan bahwa rata-rata persentase luas kepadatan kolagen yang paling baik adalah kelompok P3 yaitu kelompok perlakuan yang mengalami luka bakar dan diberi gel ekstrak daun buncis 25%. Kemudian rata-rata persentase luas kepadatan kolagen yang paling buruk adalah kelompok kontrol yaitu kelompok yang mengalami luka bakar dan diberi gel ekstrak daun buncis namun tidak diberi gel ekstrak daun buncis sama sekali.

Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan uji normalitas *Shapiro- Wilk* SPSS. Metode ini digunakan karena jumlah total sampel data untuk keseluruhan kelompok kurang dari 50. Sehingga penggunaan Teknik *Kolmogorov Smirnov* untuk mendeteksi kenormalan data dalam penelitian ini adalah yang paling tepat. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah data penelitian terdistribusi normal atau tidak. Normalitas data merupakan hal yang penting karena dengan data yang terdistribusi normal, maka data tersebut dianggap dapat mewakili populasi (Ghozali, 2018). Apabila nilai $p > 0.05$ maka data dinyatakan terdistribusi normal dan sebaliknya apabila nilai $p < 0.05$ maka data dinyatakan tidak terdistribusi normal. Hasil uji normalitas data pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 3 Hasil Uji Normalitas *Kolmogorov Smirnov*

Kelompok	Statistik	Signifikansi
Kontrol	0,185	0,200
Perlakuan I (P1)	0,189	0,200
Perlakuan II (P2)	0,178	0,200
Perlakuan III (P3)	0,270	0,200

Sumber: SPSS 26 for windows

Berdasarkan tabel di atas, telah dilakukan uji normalitas menggunakan SPSS, didapatkan data yang menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan persentase kepadatan kolagen dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-14 semuanya menunjukkan nilai yang signifikan. Dimana nilai signifikansi (p) pada Uji *Kolmogorov Smirnov* adalah nilai yang melebihi margin standar $p > 0.05$ yaitu

Tabel 5. Hasil Uji Test ANOVA

Perbandingan Persentase penyembuhan luka	Jumlah Perbandingan	df.	Nilai Signifikansi
Antara Grup	743,587	3	0,000
Dalam Grup	71,250	20	
Total	814,927	23	0,000

Sumber: SPSS 26 for windows

Uji T-test ialah metode statistik yang digunakan untuk menguji apakah terdapat perbedaan signifikan antara dua kelompok atau populasi. Uji T-test mengasumsikan

sebesar 0.934 untuk Kelompok Kontrol 0,200, Kelompok P1 nilai signifikansi 0,200, kelompok P2 0.200 dan untuk Kelompok P3 0.200. Sehingga berdasarkan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* data yang disajikan berdistribusi normal.

Proses pertumbuhan kolagen atau penambahan kepadatan kolagen pada masing-masing kelompok Kontrol, Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 yang diamati selama 21 hari perlakuan pada masing-masing kelompok diuji homogenitasnya dengan menggunakan One Way ANOVA Test. Hasil menunjukkan bahwa varian data hasil penelitian kelompok kontrol kelompok P1, kelompok P2 dan kelompok P3 adalah homogen atau berasal dari populasi yang mempunyai varians yang sama yaitu 0.290 ($p > 0,05$). Data disajikan pada tabel berikut.

Tabel 4 Hasil Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.340	3	20	.290

Sumber: SPSS 26 for windows

Dari hasil tabel di atas dilakukan test lanjutan untuk melihat apakah ada perbedaan persentase kepadatan kolagen dari keempat kelompok yang dilakukan penelitian atau pengamatan. Berdasarkan data pada tabel di kolom "Sig." diperoleh nilai p (p-value) adalah 0.200 Dengan demikian pada taraf nyata = 0.05 berarti H_0 ditolak, sehingga kesimpulan yang didapatkan adalah ada perbedaan yang bermakna rata-rata (mean) persentase kepadatan kolagen dari keempat kelompok tersebut.

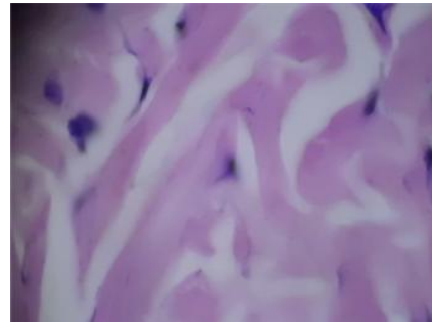
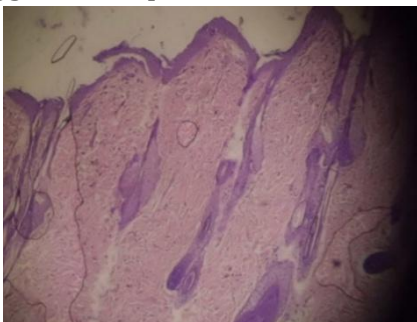
bahwa data yang diuji memiliki distribusi normal (atau mendekati normal) dan memiliki varian yang sama.

Tabel 6. Hasil Uji *t test*

		Levene's Test for Equality of Means								
		Equality of Variances								
		F	Sig.	T	Df	Sig. (2-Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		
		tailed) Difference							of the Difference	
									Lower	Upper
HASIL	Equal variances assumed	.838	.394	-8.718	10	.000	-5.793000	.647214	-7.214083	-4.329917
	Equal variances not assumed			-8.718	8.185	.000	-5.845000	.647214	-7.258625	-4.285375

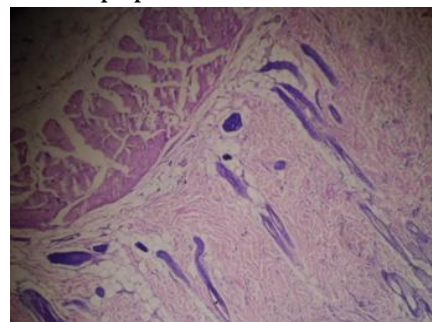
Berdasarkan output diatas nilai, Sig. *Levenes Test for equality of Varians* adalah sebesar 0,394 > 0,05 maka dapat diartikan bahwa varians data anantara kelompok adalah homogeny. Kemudian pada bagian equal variances assumed diketahui nilai sig (2 tailed) sebesar 0.000 < 0,05, maka disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan (nyata) antara rata-rata hasil pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dengan dosis 15%, kelompok perlakuan 2 dengan dosis 20%, kelompok perlakuan 3 dengan dosis 25%.

Hasil pengamatan preparat histopatologi kepadatan kolagen pada jaringan kulit tikus masing-masing kelompok dapat diamati lewat foto pada tabel berikut ini. Adapun proses peacaan luas kepadatan kolagen diamati dengan menggunakan aplikasi software *Image J*.



Gambar 5. Pengamatan Kolagen Kelompok Kontrol
 Sumber: *Software Image J*

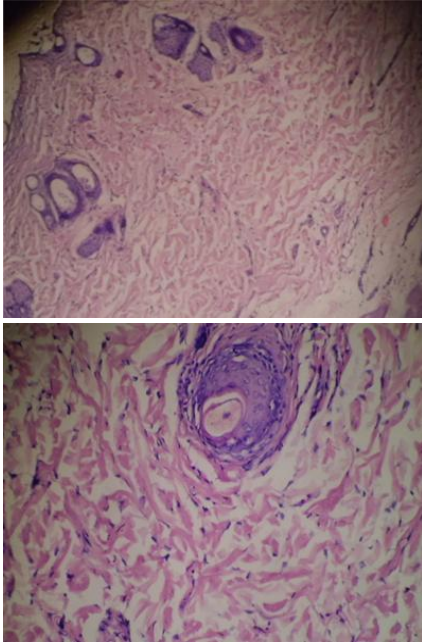
Dari pengamatan histopatologi yang ada pada gambar di atas yaitu pada kelompok kontrol, dapat dijelaskan bahwa gambar kepadatan kolagen pada kelompok kontrol normal yaitu yang berwarna biru keunguan dan terlihat padat dan biasa. Kondisi kepadatan kolagen terlihat lebih padat dan serabutnya tidak berserak karena pada kelompok ini tidak diberi perlakuan apapun.



Gambar 6. Pengamatan Kolagen Kelompok P1

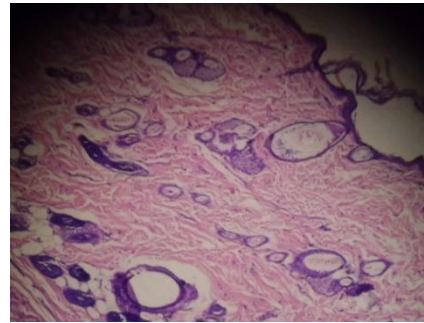
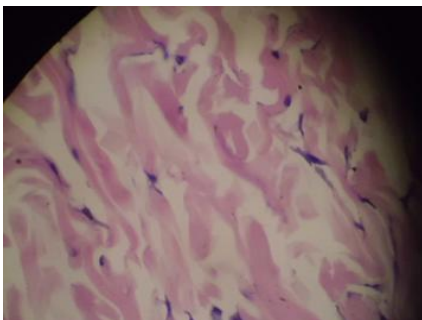
Dari pengamatan histopatologi yang ada pada gambar di atas yaitu pada kelompok perlakuan I (P1) dengan pemberian gel ekstrak daun buncis dosis 15 % dapat dijelaskan bahwa gambar kepadatan kolagen pada kelompok P1 jumlah kolagen (warna biru) sudah mulai ada, namun masih terlihat jarang. Kondisi

kepadatan kolagen yang sudah mulai ada namun masih jarang karena pada kelompok ini karena setelah mengalami luka bakar, kelompok sudah gel ekstrak daun buncis dosis 15%.



Gambar 7. Pengamatan Kolagen Kelompok P2
Sumber: *Software Image J*

Dari pengamatan histopatologi yang ada pada gambar di atas yaitu pada kelompok perlakuan II (P2) dengan pemberian gel ekstrak daun buncis dosis 20 %, dapat dijelaskan bahwa gambar kepadatan kolagen pada kelompok P2 jumlah kolagen sudah lebih banyak dari kelompok P1 dan lebih rapat. Kondisi kepadatan kolagen yang sudah mulai banyak dan mulai rapat karena pada kelompok ini karena setelah mengalami luka bakar, kelompok P2 diberikan gel ekstrak daun buncis dosis 20%.



Gambar 8. Pengamatan Kolagen Kelompok P3

Dari pengamatan histopatologi yang ada pada gambar di atas yaitu pada kelompok perlakuan III (P3), dapat dijelaskan bahwa gambar kepadatan kolagen pada kelompok P3 dengan pemberian gel ekstrak daun buncis dosis 25 % sangat banyak dan rapat, lebih banyak dan rapat dibanding kelompok P1 dan P2. Kondisi kepadatan kolagen yang sudah sangat banyak dan sangat rapat karena pada kelompok ini karena setelah mengalami luka bakar, kelompok P3 diberikan gel ekstrak daun buncis dosis 25%.

Dari pengamatan histopatologi yang ada pada gambar sebelumnya mulai dari kelompok K, P1, P2 sampai pada kelompok P3, yaitu hasil pengamatan preparat kepadatan kolagen menggunakan software image J dengan metode fraksi area dengan menggunakan 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x. Kelompok kontrol menunjukkan persentase kepadatan kolagen yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok lainnya. Terlihat pada foto yang menunjukkan kepadatan kolagen pada kelompok P0 (yaitu: warna biru) hampir tidak terlihat. Pada kelompok kontrol normal, apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol kelompok P1, kelompok P2 dan kelompok P3 persentase luas kepadatan kolagen terlihat lebih stabil yang dapat diamati dari warna biru foto kepadatan kolagen yang disajikan dalam tabel.

Pada kelompok dengan perlakuan setelah mengalami luka bakar yaitu kelompok P1, kelompok P2 dan kelompok P3, kepadatan kolagen yang lebih baik terlihat ada pada kelompok perlakuan P3 yaitu yang diberikan gel ekstrak daun buncis dengan dosis 25%. Hal ini terjadi karena kandungan senyawa pada gel ekstrak daun buncis lebih banyak sebanding dengan semakin banyak dosis yang dipakai pada pembuatan gel.

Pada penelitian ini, pertumbuhan kolagen diamati berdasarkan pada persentase luas pertumbuhan kolagen yang diamati dengan menggunakan software Image J. Ekstrak yang diambil pada penelitian ini menggunakan tanaman daun buncis. Daun buncis yang digunakan yaitu daun lidah buaya segar yang berwarna hijau tua. Pembuatan ekstrak daun buncis dilakukan dengan cara maserasi.

Pembuatan ekstrak daun buncis dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 50 g daun pegagan segar dirajang halus kemudian dimaserasi dalam etanol 96% dan di shaker selama 24 jam dengan kecepatan 200 rpm. Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya filtrat dievaporasi pada suhu 40° C dengan tekanan 100 MBar sehingga didapatkan ekstrak daun pegagan. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan sebelum digunakan. Kemudian ekstrak daun buncis diolah menjadi sediaan gel.

Adapun kandungan senyawa atau zat kimia yang ada pada ekstrak daun buncis yang dihasilkan (positif) melalui uji fitokimia adalah flavonoid, seteroid, alkanoid dan tanin.

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih

jantan karena mudah didapat, mudah ditangani dan mempunyai kemiripan fisiologi dan anatomi dengan manusia. Tikus yang digunakan sebanyak 24 ekor, yaitu masing-masing kelompok adalah 6 ekor. Sebelum perlakuan tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu agar dapat menyesuaikan diri. Tiap tikus dikelompokkan dan diberi tanda, yaitu: kelompok kontrol normal (KN), kelompok kontrol negatif (P0) yang tanpa diberi perlakuan apapun, kelompok perlakuan I (P1) yaitu kelompok yang diberi gel ekstrak daun buncis dengan dosis 15% secara topikal, kelompok perlakuan II (P2) yaitu kelompok yang diberi gel ekstrak daun buncis dengan dosis 20% secara topikal, dan kelompok perlakuan III (P3) yaitu kelompok yang diberi gel ekstrak daun buncis dengan dosis 25% secara topikal.

Selanjutnya pengambilan sampel kulit/jaringan dilakukan pada hari ke 16 yang sebelumnya tikus dikorbankan dengan di inhalasi menggunakan kloroform, daerah punggung yang akan diambil kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh kembali, kulit digunting dengan ketebalan ± 3 mm sampai dengan subcutan dan sepanjang 2,5 cm. Sampel jaringan diwarnai dengan pewarnaan haematoxylin selama 5 menit dan dibilas menggunakan air mengalir selama 10 menit. Kemudian sampel diwarnai dengan pewarnaan eosin selama 2 menit dan dilanjutkan dengan memasukkan sampel ke dalam larutan alkohol bertingkat, dilakukan clearing dengan silol dan diakhiri dengan penutupan slide jaringan dengan kaca penutup yang telah terlapisi bahan perekat.

Hasil pengamatan preparat kepadatan kolagen menggunakan software image J dengan metode fraksi area dengan menggunakan 5 lapang pandang dengan perbesaran 40x dan dari hasil analisis hasil diatas bahwa uji normalitas dan homogenitas ditunjukkan nilai signifikansi pada uji shapiro wilk setiap kelompok memiliki nilai $p > 0,05$ maka uji analisis statistik dilanjutkan dengan uji parametrik anova dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$. Pada uji parametrik annova didapatkan hasil signifikansi 0.000 hal ini dapat dinyatakan bahwa nilai signifikansi ($p < 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna dari beberapa kelompok. Analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji bonferroni.

Perbedaan hasil yang signifikan antara kelompok P1, P2, dan P3 dengan kelompok kontrol memperlihatkan adanya pengaruh yang besar terhadap peningkatan kolagen dalam kulit tikus setelah mengalami luka bakar yang merusak jaringan kulit tikus. Keadaan ini dipengaruhi adanya peningkatan dosis ekstrak daun buncis pada sediaan gel yaitu pada kelompok P1 dengan dosis ekstrak 15%, pada kelompok P2 dengan dosis ekstrak 20%, dan pada kelompok P3 dengan dosis ekstrak 25%. Sehingga semakin besar dosis ekstrak daun buncis dalam formulasi sediaan gel maka semakin terjadi peningkatan kepadatan serabut kolagen yang bermakna antara P1, P2, dan P3. Ini terjadi karena pada gel ekstrak daun buncis terdapat kandungan senyawa flavanoid dan polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Seol et al. (2021) yang menyatakan bahwa sifat anti-inflamasi dan

anti-oksidatif dari berbagai molekul, termasuk flavonoid, polifenol, karotenoid, dan vitamin C dan E, dan ekstrak alami, memiliki kemampuan untuk mencegah atau merangsang degenerasi atau sintesis kolagen.

Kandungan tanin dan fenolik pada gel daun pegagan sebagai astrigen dapat berpengaruh terhadap berkurangnya *permeabilitas mukosa* dan ikatan antar mukosa menjadi kuat sehingga mencegah iritan dan secara tidak langsung tanin berpengaruh terhadap *permeabilitas mukosa* dan dinding bakteri sehingga bakteri mengerut dan mati. Kandungan fenolik dalam daun pegagan berperan dalam mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas sehingga mencegah proses inflamasi dan peradangan. (Awwaliyah, 2021)

Selanjutnya faktor lain yang juga dapat mempengaruhi hasil penelitian ini adalah jumlah sampel yang digunakan lebih sedikit dari penelitian-penelitian sebelumnya, dimana pada penelitian ini sampel yang dipergunakan adalah hanya sebanyak 25 ekor tikus putih atau 5 ekor/kelompok. Banyaknya jumlah sampel yang digunakan akan mempengaruhi suatu penelitian karena semakin banyak jumlah sampel yang digunakan maka akan semakin kecil peluang kesalahan generalisasi (Handayani, 2020).

SIMPULAN

Dari hasil uji fitokimia daun buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) yang dilakukan, kandungan fitokimia dalam ekstrak yang ditemukan adalah flavonoid, saponin, alkanoid, steroid. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) memiliki

kandungan fitokimia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat karena mengandung senyawa antioksidan dan antiinflamasi yang tinggi. Persentase rata-rata pertumbuhan kolagen kelompok kontrol dibandingkan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 setelah mengalami luka bakar. Hal ini disebabkan karena kelompok kontrol tidak diberikan aplikasi krim yang mengandung zat aktif yang dapat membantu proses percepatan pertumbuhan kolagen pada jaringan kulit. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa kelompok kontrol pertumbuhan kolagennya tidak signifikan dan cenderung stabil. Sementara itu, kelompok pemberian gel daun buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) 25% lebih berpengaruh pada pertumbuhan kolagen jaringan kulit tikus setelah mengalami luka bakar dibandingkan dengan kelompok pemberian gel ekstrak daun pegagan 15% dan 20%. Hal ini disebabkan karena penggunaan dosis daun buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) yang lebih besar berarti mengandung senyawa kimia yang lebih banyak yang bermanfaat untuk pertumbuhan kolagen pada kulit tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdo, J. M., Sopko, N. A., & Milner, S. M. (2020). The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. *Wound Medicine*, 28, 100179. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100179>
- Adhisa, S. (2020). Kajian penerapan model pembelajaran kooperatif tipe true or false pada kompetensi dasar kelainan dan penyakit kulit. *E-Jurnal*, 09(3), 82–90.
- Agarwal, S., & Krishnamurthy, K. (2023). *Histology, skin*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Altay Benetti, A., Tarbox, T., & Benetti, C. (2023). Current insights into the formulation and delivery of therapeutic and cosmeceutical agents for aging skin. *Cosmetics*, 10(2), 54. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics10020054>
- Andersen, L. K. (2018). The impact of climate change on skin and skin-related disease. In J. Krutmann & H. Merk (Eds.), *Environment and skin* (Chapter X). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43102-4_3
- Anggowarsito, J. L. (2014). Luka bakar sudut pandang dermatologi. *Jurnal Widya Medika*, 2(2), 115–120.
- Artawan, I. (2013). Efek ekstrak gel daun pegagan (*Centella asiatica*) dalam mempercepat waktu penyembuhan luka pada tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar). *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1–6.
- Bai, H., & Graham, C. (2020). Introduction: Skin. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 93(1), 1–2. PMCID: PMC7087064
- Bosch, R., Philips, N., Suárez-Pérez, J. A., Juarranz, A., Devmurari, A., Chalensouk-Khaosaat, J., & González, S. (2015). Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals. *Antioxidants*, 4(2), 248–268. <https://doi.org/10.3390/antiox4020248>
- Budi, S., & Rahmawati, M. (2019). Pengembangan formula gel ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) sebagai anti jerawat. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(1), 51–55.
- Chandrika, U. G., & Kumara, P. A. P. (2015). Gotu kola (*Centella asiatica*): Nutritional properties and plausible health benefits. *Advances in Food and Nutrition Research*, 76, 125–157.
- Choi, H. J., Alam, M. B., Baek, M. E., Kwon, Y. G., Lim, J. Y., & Lee, S. H. (2020). Protection against UVB-induced photoaging by Nypa fruticans via inhibition of MAPK/AP-1/MMP-1 signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2905362. <https://doi.org/10.1155/2020/2905362>
- Delgado. (2002). *Antioxidant and antimutagenic properties of Phaseolus vulgaris and Phaseolus coccineous black seeded bean varietie*.
- Dzomba, P., Togarepi, E., & Mupa, M. (2013). Anthocyanin content and antioxidant activities of common bean species (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Mashonaland Central, Zimbabwe. *African Journal of Agricultural Research*, 8(25), 3330–3333.
- El-Sayed, Y. S. (2016). Time course of histomorphologic features during chronic

- burn wound healing. Damanhour: Damanhour University.
- Farida, S., & Maruzy, A. (2016). *Kecombrang (Etlingera elatior): Sebuah tinjauan penggunaan secara tradisional, fitokimia dan aktivitas farmakologinya*. Tawangmangu: Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI.
- Giri, I. M. D. S., Kusuma, W. I. G. A. A., & Suena, N. M. D. S. (2021). Peran metabolit sekunder tumbuhan dalam pembentukan kolagen pada kulit tikus yang mengalami luka bakar. *Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 1(1), 23–29. <https://usadha.unmas.ac.id>
- Grandi, C., & D'Ovidio, M. C. (2020). Balance between health risks and benefits for outdoor workers exposed to solar radiation: An overview on the role of near infrared radiation alone and in combination with other solar spectral bands. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1357.
- Gromkowska-Kępką, K. J., Puścion-Jakubik, A., Markiewicz-Żukowska, R., & Socha, K. (2021). The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging: A review of in vitro studies. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20(11), 3427–3431. <https://doi.org/10.1111/jocd.14033>
- Gusbakti, R., Ilyas, S., Lister, I. N. E., et al. (2022). Pengaruh konsumsi ekstrak buah naga merah terhadap kadar malondialdehid dan superoksida dismutase setelah latihan berat pada tikus (*Rattus norvegicus*) [Version 3; peer review: 2 approved]. *FioooResearch*, 10, 1061. <https://doi.org/10.12688/fioooResearch.5425.4.3>
- Hakim, I. R., Lestari, F., & Priani, S. E. (2021). Kajian pustaka tanaman yang berpotensi dalam penyembuhan luka bakar. *Prosding Farmasi*, 7(1), 14–20. <http://dx.doi.org/10.29313/.v7i1.25982>
- Hamouda, S. A., Alshawish, N. K., Abdalla, Y. K., & Ibrahim, M. K. (2022). Ultraviolet radiation: Health risks and benefits. *Saudi Journal of Engineering and Technology*, 7(10), 533–541.
- Haryanto, A., Pangkahila, W., & Wiraguna, A. A. G. P. (2020). Black rice bran (*Oryza sativa* L. indica) extract cream prevented the increase of dermal matrix metalloproteinase-1 and dermal collagen reduction of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) exposed to ultraviolet-B rays. *IJAAM Indonesian Journal of Anti-Aging Medicine*, 4(1), 16–19.
- Jannah, Sudarma, & Andayani. (2013). Analisis senyawa fitosterol dalam ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Program Pascasarjana*, Universitas Mataram.
- Kruglikov, I. L., Zhang, Z., & Scherer, P. E. (2019). Caveolin-1 in skin aging: From innocent bystander to major contributor. *Ageing Research Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100959>
- Lansdown, R. V. (2019). *Centella asiatica*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2019-2.
- Lieberman, Rieger, & Banker. (2018). *Pharmaceutical dosage form: Disperse system (Vol. ke 2)*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Loarcapina, F. G., Guzman-Maldonado, H., Acosta-Galegos, J., & Garcia-Lopez-Ojeda, S. (2022). *Anatomy, skin (integument)*. In StatPearls. StatPearls Publishing. [PMID: 28723009]
- Maeda, K. (2018). Analysis of ultraviolet radiation wavelengths causing hardening and reduced elasticity of collagen gels in vitro. *Cosmetics*, 5(1), 14. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics5010014>
- Mercandetti, M., & Cohen, A. (2002). Wound healing and repair. *E Medicine*.
- Memon, M. A., Ting, H., Cheah, J. H., Thurasamy, R., Chuah, F., & Cham, T. H. (2020). Sample size for survey research: Review and recommendations. *Journal of Applied Structural Equation Modeling*, 4(2), 1–20.
- Mohania, D., Chandel, S., Kumar, P., Verma, V., Digvijay, K., Tripathi, D., ... & Shah, D. (2017). *Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism*. In *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment* (pp. 71–87).
- Ravi, C. S., Umesha, K., HimaBindu, K., Raviraja Shetty, G., & Anil Kumar, G. S. (2019). Collection and morphological variability in ecotype of Indian pennywort (*Centella asiatica* L.) of hill zone of Karnataka, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8, 994–1008.
- Rahayu, Y. C., Wulan, A., Dharmayanti, S., & Larasati, A. T. (2020). The effect of proanthocyanidin cocoa pod rind extract (*Theobroma cacao* L.) on MMP-8 expression in gingival tissue of periodontitis rats model. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*, 14(28), 88–93.
- Ratz-Lyko, A., Arct, J., & Pytkowska, K. (2016). Moisturizing and antiinflammatory properties of cosmetic formulations containing *Centella asiatica* extract. *Indian*

- Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(1), 27-33. <https://doi.org/10.4103/0250-474x.180247>
- Rinnerthaler, M., Bischof, J., Streubel, M. K., Trost, A., & Richter, K. (2015). Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, 5(2), 545-589.
- Rukmana, R. (1998). *Bertanam buncis (Cetakan ke-2)*. Jakarta: Kanisius.
- Sabaragamuwa, R., Perera, C. O., & Fedrizzi, B. (2018). Centella asiatica (Gotu kola) as a neuroprotectant and its potential role in healthy ageing. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 88-97. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.024>
- Suherman, L. P., Ramdani, R., Septiani, V., Indrayani, W., & Nurul, A. (2021). *Pharmacoscript*, 4 (2), Agustus 2021, 4(2), 1-12.
- Sumbayak, E. M. (2016). Fibroblas: Struktur dan peranannya dalam penyembuhan luka. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 21(57). <http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Meditek/article/view/1169>
- Suwiti, N. K. (2010). Deteksi histologik kesembuhan luka pada kulit pasca pemberian daun mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn). *Buletin Veteriner Udayana*, 2(1), 1-9.
- Sihombing, C. N., Wathoni, N., & Taofik, R. (2009). Formula gel antioksidan ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan basis Aqupec505 HV. Sumedang: Universitas Padjadjaran.
- Ulviani, F., Yusriadi, Y., & Khaerati, K. (2016). Pengaruh gel ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap penyembuhan luka bakar pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 2(2), 103-110.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan alami & radikal bebas dan aplikasinya dalam kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yousef, H., Alhajj, M., & Sharma, S. (2017). *Anatomy, skin (integument), epidermis*.