

**PENGARUH KRIM EKSTRAK MENTIMUN (*Cucumis sativus*) TERHADAP KADAR AQUAPORIN-3 DAN
*HYALURONIC ACID***

**(Studi Eksperimental pada Tikus Betina Galur Wistar Model Xerosis Cutis
Derajat II)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat

Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Ajeng Destian Suparwi

MBK2423010423

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG 2025

TESIS
PENGARUH KRIM EKSTRAK MENTIMUN (*Cucumis sativus*)
TERHADAP KADAR AQUAPORIN-3 DAN *HYALURONIC*
ACID

(Studi Eksperimental pada Tikus Betina Galur Wistar Model Xerosis Cutis
Derajat II)

disusun oleh:

Ajeng Destian Suparwi

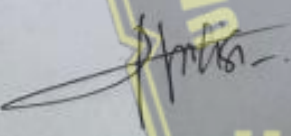
MBK.24.23.010423

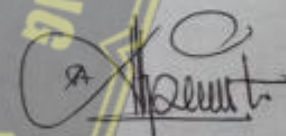
Telah dipertahankan didepan Tim Penguji
Kamis, 07 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. dr. Pasid Harlisa Sp.DVE.,
FINS DV, FAADV
NIK.8951110021


Prof. Dr. Siti Thomas Z, S.KM, M.Kes
NIK.210.109110

Mengetahui,

Ketua program studi magister Ilmu
Biomedik Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung




Dr. dr. Eko Setiawan, SpB. FINACS
NIK.210.123.106

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.



Semarang, Agustus 2025

Ajeng Destian Suparwi

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Ajeng Destian Suparwi
Tempat/ Tanggal Lahir : Purbalingga, 13 Februari 1989
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Kemala Bhayangkari 16 : Lulus tahun 1994
2. SDN 1 Purbalingga Kidul : Lulus tahun 2000
3. SLTPN 1 Purbalingga : Lulus tahun 2003
4. SMAN 1 Purbalingga : Lulus tahun 2006
5. S1 Fakultas Kedokteran UNS : Lulus tahun 2010
6. Profesi Dokter UNS : Lulus tahun 2013
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

- a. Nama Suami : dr. Gandik Danu P, Sp.PD
- b. Nama Anak :
- Rafif Ghana Al Aqsa
 - Rafisqy Ghana Alfariq
 - Razqya Ghana Aatifa

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga hasil tesis dengan judul **“EFEK PEMBERIAN KRIM EKSTRAK MENTIMUN (*Cucumis Sativus*) TERHADAP KADAR AQUAPORIN-3 DAN *HYALURONIC ACID* (Studi Eksperimental pada Tikus Betina Galur Wistar Model *Xerosis cutis* Derajat II)”** ini dapat penulis selesaikan.

Hasil Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B.
4. Dr. dr. Pasid Harlisa Sp.DVE., FINS DV, FAADV. atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Prof. Siti Thomas Z,S.KM, M.Kes. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat

bimbingan tesis.

6. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B., FINACS selaku penguji pertama dan juga ketua Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang sudah bersedia meluangkan waktunya untuk saya.
7. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE, Subsp. DKE, FINSADV, FAADV, selaku penguji kedua yang sudah meluangkan waktunya untuk saya.
8. Dr. dr. Hj. Chodidjah M. Kes selaku penguji ketiga yang sudah bersedia meluangkan waktunya untuk saya.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
10. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
11. Suami saya tercinta, anak-anak, Ibu, Bapak, Mamah, almarhum Papah, dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
12. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar hasil tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Semarang, Juni 2025

Penulis



(Ajeng Destian Suparwi)



DAFTAR ISI

TESIS	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Aquaporin-3 (AQP3)	7
2.1.1 Definisi dan Lokasi	7
2.1.2 Struktur dan Fungsi	8
2.2 Hyaluronic Acid (HA)	10
2.2.1 Definisi dan Lokasi	10
2.2.2 Struktur dan Fungsi	11
2.3 Xerosis Cutis	12
2.3.1 Definisi	12

2.3.2 Faktor Penyebab	13
2.3.2 Patofisiologi	14
2.3.4. Penilaian Xerosis Cutis	16
2.3.5 Dampak <i>Xerosis Cutis</i> terhadap <i>Skin Barrier</i> dan Hidrasi Kulit	18
2.4 Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	19
2.4.1 Definisi dan Taksonomi	19
2.4.2 Fungsi	20
2.4.3 Mekanisme Kerja Mentimun pada <i>Xerosis cutis</i>	20
2.5 Sediaan Krim	23
2.5.1 Definisi	23
2.5.2 Jenis-jenis Sediaan Krim	23
2.5.3 Komponen Sediaan Krim	24
2.6 Model Tikus Wistar	24
2.6.1 Definisi dan Karakteristik	24
2.6.2 Keunggulan Penggunaan Tikus Wistar Betina pada <i>Xerosis cutis</i>	25
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	27
3.1 Kerangka Teori	27
3.2 Kerangka Konsep	32
3.3 Hipotesis	32
BAB IV METODE PENELITIAN	33
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	33
4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	35
4.2.1 Variabel Penelitian	35
4.2.2 Definisi Operasional	36
4.3 Sampel Penelitian	38
4.3.1 Kriteria Inklusi	39
4.3.2 Kriteria Eksklusi	39
4.3.3 Kriteria Dropout	40
4.3.4 Cara Pengambilan Sampel Penelitian	40
4.3.5 Besar Sampel	40
4.4 Alat dan Bahan	41
4.4.1 Alat	41

4.4.2 Bahan	42
4.5 Prosedur Penelitian	43
4.5.1 Perolehan Ethical Clearance	43
4.5.2 Persiapan Hewan Uji	43
4.5.3 Analisis Kadar Flavonoid dan Vitamin C	44
4.5.4 Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	45
4.5.5 Cara Pembuatan Krim Ekstrak Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	46
4.5.6 Induksi <i>Xerosis cutis</i> Derajat II	47
4.5.7 Pemakaian Krim dan Pengambilan Sampel Jaringan	51
4.5.8 Pemeriksaan Aquaporin-3 (AQP3)	51
4.5.9 Pemeriksaan <i>Hyaluronic Acid</i> (HA)	53
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian	56
4.7 Analisis Data	56
4.8 Alur Penelitian	57
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	58
5.1 Hasil Penelitian	58
5.1.1. Hasil Analisis Kandungan Flavonoid dan Asam Askorbat Ekstrak Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	59
5.1.2. Hasil Validasi Model Tikus Xerosis Cutis Derajat II yang dioleskan secara topikal kombinasi aseton 70% dan etanol 100% selama 7 hari.	61
5.1.3. Hasil pengamatan makroskopis jaringan kulit pada tiap kelompok dengan <i>skin analyzer</i> merk alat (WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 <i>Endoscope Magnifier 1600x, Black</i>) pada saat perlakuan.	62
5.1.4. Hasil analisis Kadar Aquaporin-3 (AQP3) jaringan kulit pada tiap kelompok dengan metode ELISA	65
5.1.5. Hasil analisis Kadar <i>Hyaluronic Acid</i> (ng/L) jaringan kulit pada tiap kelompok	67
5.2. Pembahasan	70
BAB VI KESIMPULAN	77
6.1. Kesimpulan	77
6.2. Saran	78
DAFTAR PUSTAKA	79
Lampiran	84
Lampiran Ethical Clearance	84

Lampiran Foto Dokumentasi Penelitian.....	86
Penimbangan, pengolesan dan pengamatan hewan coba	87
Lampiran Hasil Penelitian Kadar AQP3 dan HA dengan metode ELISA.....	88
Lampiran Uji SPSS.....	92



DAFTAR SINGKATAN

AQP3	: <i>Aquaporin-3</i>
AQP	: <i>Aquaporin</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
HA	: <i>Hyaluronic Acid</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry</i>
IC50	: <i>Half Maximal Inhibitory Concentration</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-Kappa B</i>
O/W	: <i>Oil in Water</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TEWL	: <i>Transepidermal Water Loss</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TNFR1	: <i>TNF Receptor 1</i>
TNFR2	: <i>TNF Receptor 2</i>
TYR	: <i>Tyrosinase</i>
TYRP2	: <i>Tyrosinase Related Protein-2</i>
TRAF	: <i>TNF Receptor Associated Factor</i>
TRADD	: <i>TNF Receptor Associated Death Domain</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
W/O	: <i>Water in Oil</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	5
Tabel 2.1 Penilaian ODS.....	17
Tabel 4.2 Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Mentimun.....	45
Tabel 4.3 Analisis Derajat Xerosis cutis.	48
Tabel 5.1. Hasil deskriptif rerata kadar AQP3 (ng/L) dan uji Kruskal-Wallis	65
Tabel 5.2. Hasil deskripsi rerata kadar HA (ng/L) dan uji Kruskal-Wallis	67
Tabel 5.3. Uji Mann-Whitney antar kelompok terhadap kadar Hyaluronic Acid .	68



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Distribusi Imunofluoresensi AQP3 Epidermis Manusia Normal.....	8
Gambar 2.2 Fungsi Aquaporin-3 pada Atopic Dermatitis dan Psoriasis.....	10
Gambar 2.4 Struktur Hyaluronic Acid.	11
Gambar 2.5 Aplikasi HA di Berbagai Bidang.	12
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	31
Gambar 3.2 Kerangka Konsep.....	32
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.....	33
Gambar 4.2 Skor Xerosis cutis Berdasarkan Visual.	49
Gambar 4.3 Alur Penelitian.....	57
Gambar 5.1 Perbandingan makroskopis jaringan kulit tikus sehat (atas) dengan Model tikus <i>Xerosis cutis</i> derajat II (bawah).	61
Gambar 5.2 Pengamatan makroskopis jaringan kulit pada tiap kelompok dengan mikroskop digital pada hari ke 1, 3, 7, 10, dan 14.	65
Gambar 5.3 Grafik rerata kadar AQP3 (ng/L) setiap kelompok perlakuan	66
Gambar 5.4 Grafik rata-rata kadar Hyaluronic Acid setiap kelompok perlakuan.	69

ABSTRAK

Latar Belakang: Xerosis cutis merupakan kondisi kulit kering yang ditandai oleh penurunan hidrasi dan disfungsi skin barrier, sering kali terkait dengan penurunan kadar *Aquaporin-3* (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA). Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) diketahui memiliki kandungan flavonoid dan vitamin C yang berperan sebagai antioksidan dan humektan alami.

Tujuan: Menilai pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun terhadap kadar AQP3 dan HA pada tikus Wistar betina model xerosis cutis derajat II.

Metode: Penelitian *in vivo* dengan desain *post-test only control group* ini melibatkan 25 ekor tikus Wistar betina yang dibagi menjadi lima kelompok: kontrol normal, kontrol negatif (xerosis tanpa terapi), kontrol positif (ceramide 10%), serta perlakuan krim mentimun 3% dan 5%. Xerosis diinduksi dengan topikal aseton 70% dan etanol 100%, kemudian krim diberikan selama 14 hari. Kadar AQP3 dan HA diukur menggunakan ELISA.

Hasil: Kelompok perlakuan yang menerima krim ekstrak mentimun, khususnya dosis 5% ($611,25 \pm 248,61$ ng/L), menunjukkan peningkatan signifikan kadar *Hyaluronic Acid* (HA) dibandingkan kelompok kontrol negatif ($648,89 \pm 59,83$ ng/L) ($p = 0,016$). Kadar HA lebih tinggi mengindikasikan bahwa pemberian krim ekstrak mentimun berpotensi memperbaiki hidrasi kulit pada model xerosis cutis. Sementara itu, pada parameter *Aquaporin-3* (AQP3), kelompok krim ekstrak mentimun dosis 5% ($1725,04 \pm 533,59$ ng/L) maupun dosis 3% ($1448,69 \pm 483,22$ ng/L) menunjukkan kecenderungan peningkatan dibandingkan kelompok kontrol negatif ($1753,16 \pm 289,49$ ng/L), namun perbedaannya tidak bermakna secara statistik ($p = 0,131$).

Kesimpulan: krim ekstrak mentimun 5% berpotensi sebagai agen topikal alami untuk mempertahankan hidrasi kulit pada xerosis cutis derajat II, terutama melalui stabilisasi kadar HA, meskipun pengaruh AQP3 belum signifikan secara statistik.

Kata Kunci: Krim mentimun, Aquaporin-3, Hyaluronic Acid, Xerosis cutis

ABSTRACT

Background: Xerosis cutis is a dry skin condition characterized by decreased hydration and skin barrier dysfunction, often associated with reduced levels of Aquaporin-3 (AQP3) and Hyaluronic Acid (HA). Cucumber extract (*Cucumis sativus*) is known to contain flavonoids and vitamin C, which act as natural antioxidants and humectants.

Objective: To evaluate the effect of cucumber extract cream on AQP3 and HA levels in female Wistar rats with grade II xerosis cutis.

Methods: This in vivo study with a post-test only control group design involved 25 female Wistar rats, divided into five groups: normal control, negative control (xerosis without treatment), positive control (10% ceramide), and treatment groups receiving cucumber cream at 3% and 5%. Xerosis was induced by topical application of 70% acetone and 100% ethanol, followed by topical cream administration for 14 days. AQP3 and HA levels were measured using the ELISA method.

Results: The treatment group receiving cucumber extract cream, particularly the 5% dose (611.25 ± 248.61 ng/L), showed a significant increase in Hyaluronic Acid (HA) levels compared with the negative control group (648.89 ± 59.83 ng/L) ($p = 0.016$). This increase indicates that cucumber extract cream may improve skin hydration in a xerosis cutis model. Meanwhile, for the Aquaporin-3 (AQP3) parameter, both the 5% (1725.04 ± 533.59 ng/L) and 3% (1448.69 ± 483.22 ng/L) cucumber cream groups tended to show higher levels compared with the negative control group (1753.16 ± 289.49 ng/L); however, the differences were not statistically significant ($p = 0.131$).

Conclusion: The 5% cucumber extract cream has the potential to serve as a natural topical agent for maintaining skin hydration in grade II xerosis cutis, primarily through the stabilization of HA levels, although the effect on AQP3 has not been statistically significant.

Keywords: Cucumber cream, Aquaporin-3, Hyaluronic Acid, Xerosis cutis

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Xerosis cutis adalah kondisi kulit kering yang sering dijumpai, terutama pada populasi lanjut usia, dan dapat mengganggu hidrasi kulit serta memperburuk masalah dermatologis lain.¹ Penanganan umumnya menggunakan pelembap humektan, oklusif, atau emolien. Namun, pelembap berbahan sintetis dapat menimbulkan efek samping seperti iritasi, alergi, atau tekstur berminyak, sedangkan efektivitas humektan terbatas tanpa dukungan oklusif memadai, khususnya di lingkungan kering, sehingga tidak optimal mencegah kehilangan air transepidermal (TEWL).^{1,2} Salah satu protein penting dalam hidrasi kulit adalah Aquaporin-3 (AQP3) yang berperan mengangkut air, gliserol, dan hidrogen peroksida melalui epidermis. Gangguan fungsi atau penurunan ekspresi AQP3 dapat menurunkan kadar air stratum korneum, meningkatkan TEWL, serta menyebabkan kulit menjadi kering, berkurang elastisitasnya, dan lambat memulihkan *skin barrier*.³ Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), dengan kandungan air $\pm 95\%$ serta senyawa aktif seperti flavonoid dan vitamin C, berpotensi melembapkan kulit sekaligus memberikan efek antioksidan dan antiinflamasi.⁴ Belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengevaluasi pengaruhnya terhadap hidrasi kulit pada kasus *xerosis cutis*, serta mekanisme molekuler yang terlibat, seperti peningkatan kadar *Aquaporin-3* (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA).

Di Indonesia, xerosis cutis termasuk salah satu kelainan kulit yang sering ditemukan di kalangan lansia. Data di Instalasi Rawat Jalan Dermatologi dan Venereologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya menunjukkan bahwa xerosis cutis merupakan kasus terbanyak kedua setelah kondisi lain, dengan angka kejadian sebesar 6,27 % dari 2.433 pasien lanjut usia yang datang dalam kurun waktu tertentu. Studi lain yang dilakukan di Panti Wreda di Surakarta menunjukkan bahwa 53 % lansia mengalami xerosis cutis, menjadikannya penyebab utama dari pruritus (gatal) di kelompok populasi tersebut. Secara lebih luas, xerosis cutis memengaruhi sekitar 75 % populasi lanjut usia secara global, dan prevalensi ini juga dipuji tinggi di Indonesia seiring bertambahnya usia serta faktor penyakit penyerta seperti penyakit ginjal kronis dan diabetes mellitus.⁵

Formulasi berbasis ekstrak mentimun menawarkan fungsi sebagai zat aktif dan humektan alami dengan tambahan sifat antioksidan dan antiinflamasi yang membedakannya dari pelembap sintesis.⁶ Selain itu, senyawa aktif dalam mentimun bekerja efektif sebagai agen antiinflamasi yang dapat meredakan kemerahan dan iritasi kulit yang sering menyertai kondisi *xerosis cutis* derajat II.⁶ Model tikus Wistar betina sering digunakan dalam studi dermatologis untuk meniru kondisi *xerosis cutis* pada manusia.⁷ Pemilihan tersebut didasarkan pada perbedaan hormonal dengan jantan, di mana hormon estrogen berperan dalam metabolisme kulit, produksi lipid epidermis, serta pemulihan *skin barrier*.^{8,9}

Reaktif oksigen spesies (ROS) yang dihasilkan pada kondisi peradangan dapat merusak protein penting kulit, salah satunya *Aquaporin-3* (AQP3), sehingga mengganggu hidrasi kulit dan memperburuk xerosis cutis. Penurunan kadar AQP3

akibat ROS menyebabkan transportasi air dan gliserol ke epidermis menjadi tidak optimal. Selain itu, *Hyaluronic Acid* (HA) juga berperan vital dalam mempertahankan kelembapan kulit melalui kemampuannya mengikat molekul air di epidermis.³ Produksi HA yang menurun akibat paparan ROS akan semakin mengurangi kapasitas kulit untuk mempertahankan kelembapan, sehingga memperparah gejala kekeringan.¹⁰ Berbagai keterbatasan pelembap sintetis, seperti risiko iritasi, reaksi alergi, tekstur berminyak, dan efektivitas yang berkurang pada lingkungan kering, mendorong perlunya alternatif berbahan alami yang aman, efektif, dan ramah lingkungan.^{1,2} Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) memiliki potensi dengan kandungan flavonoid dan vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi.⁴ Kombinasi ini berpotensi memperbaiki hidrasi kulit tidak hanya melalui efek fisik, tetapi juga lewat mekanisme molekuler dengan meningkatkan kadar AQP3 dan HA, sehingga memperkuat *skin barrier* dan mengurangi peradangan. Pendekatan ini diharapkan dapat menutup kelemahan pelembap konvensional sekaligus memberikan manfaat tambahan pada xerosis cutis derajat II sebelum berkembang menjadi kondisi yang lebih berat.

1.2 Rumusan Masalah

Adakah pengaruh krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar Aquaporin-3 dan *Hyaluronic Acid* pada tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar Aquaporin-3 dan *Hyaluronic Acid* pada tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun terhadap kadar Aquaporin-3 (AQP-3)
2. Membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun terhadap kadar *Hyaluronic Acid* (HA).
3. Menganalisis perbedaan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun dosis 3% dan 5%.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah dalam bidang kosmetik dan dermatologi, khususnya mengenai mekanisme hidrasi kulit melalui regulasi Aquaporin-3 dan kadar *Hyaluronic Acid*. Hasil penelitian pada model tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dapat menjadi dasar ilmiah untuk mengembangkan terapi hidrasi kulit berbahan mentimun.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan rekomendasi formulasi produk perawatan kulit berbahan mentimun yang aman, efektif, dan berbasis bukti untuk mengatasi *xerosis cutis* derajat II.
2. Menyediakan data eksperimen sebagai referensi bagi produsen kosmetik untuk mengembangkan produk berbahan alami yang mendukung hidrasi kulit dan memperbaiki fungsi *skin barrier*.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Metode	Hasil Utama
1.	Zhang <i>et al.</i> (2021) ⁴	<i>Regulation of aquaporin-3 water permeability by hyaluronan</i>	Penelitian eksperimental laboratorium	Ekstrak mentimun meningkatkan hidrasi dan elastisitas kulit, namun tidak meneliti kadar AQP3 atau kadar <i>Hyaluronic Acid</i> .
2.	Karimi <i>et al.</i> (2024) ¹¹	<i>Aquaporin Channels in Skin Physiology and Aging Pathophysiology</i>	Studi literatur	Ditemukan penurunan kadar AQP3 pada kulit kering, tetapi tidak mengevaluasi intervensi topikal.
3.	Bollag <i>et al.</i> (2020) ³	<i>Aquaporin-3 in the epidermis: more than skin deep</i>	Studi literatur dan eksperimen laboratorium.	Mentimun disebut sebagai agen pelembap alami mengeksplorasi peran aquaporin-3 (AQP3)
4	Khambayatkar <i>et al.</i> (2024) ⁶	<i>To Formulate and Evaluation of Moisturizing Cream by Using Cucumber Extract</i>	Penelitian formulasi dan evaluasi krim	Ekstrak mentimun terbukti meningkatkan hidrasi kulit dengan sifat antioksidan dan antiinflamasi.

5.	Saini <i>et al.</i> (2020) ³	<i>et Formulation and Evaluation of Aloe-Cucumber Face Cream: A Detox to Summer Skin</i>	Penelitian formulasi dan evaluasi krim	Formulasi krim menunjukkan hasil yang baik dalam melembapkan kulit
----	---	--	--	--

Berdasarkan Tabel 1.1 yang memuat beberapa penelitian terdahulu mengenai ekstrak mentimun dan peran Aquaporin-3 (AQP3) serta *Hyaluronic Acid* (HA) ditemukan sejumlah temuan penting. Penelitian Zhang *et al.*⁴ menganalisis pengaruh hyaluronan terhadap permeabilitas air melalui kanal AQP3, namun tidak menggunakan ekstrak mentimun maupun mengukur kadar HA. Karimi *et al.*¹¹ dan Bollag *et al.*³ membahas peran AQP3 dalam hidrasi, fungsi sawar kulit, serta patofisiologi penuaan, tetapi tidak mengevaluasi efek bahan topikal secara langsung. Sementara itu, penelitian Khambayatkar *et al.*⁶ dan Saini *et al.*³ hanya menilai formulasi dan efektivitas dasar pelembap berbahan mentimun, tanpa mengukur efek biomolekuler terhadap kadar AQP3 atau HA.

Namun, penelitian yang dilakukan dalam studi ini memiliki pendekatan yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun secara topikal terhadap kadar Aquaporin-3 dan *Hyaluronic Acid* pada tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II. Dengan pendekatan intervensional dan pengukuran kuantitatif menggunakan ELISA, penelitian ini menawarkan kontribusi baru dalam memahami efektivitas bahan herbal terhadap fungsi sawar kulit secara molekuler.

BAB II

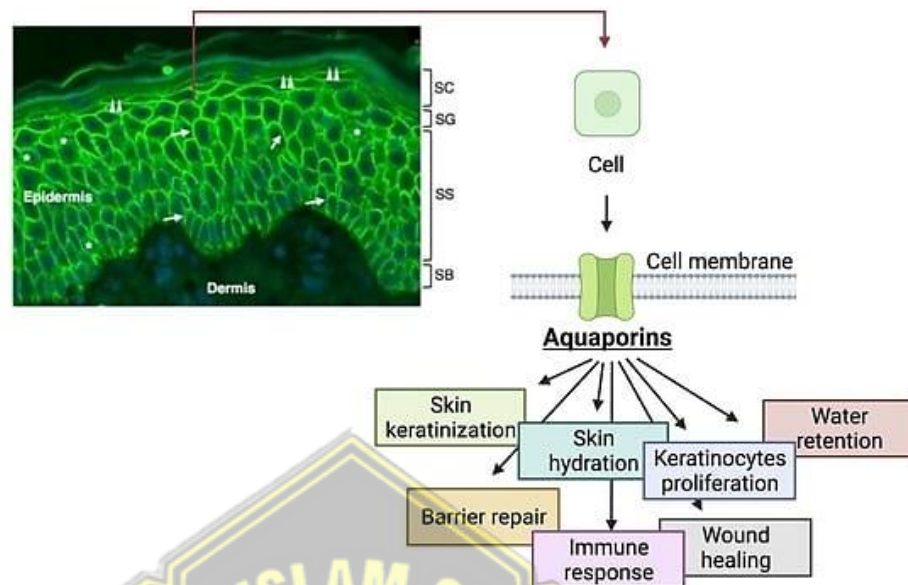
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Aquaporin-3 (AQP3)

2.1.1 Definisi dan Lokasi

Aquaporin-3 (AQP3) adalah salah satu protein transmembran yang berperan sebagai saluran untuk mengangkut air dan molekul kecil seperti gliserol dan hidrogen peroksida melintasi membran sel. AQP3 memiliki peran penting dalam menjaga hidrasi kulit, fungsi *skin barrier*, dan berbagai proses fisiologis lainnya. Protein ini terutama ditemukan pada keratinosit di lapisan basal dan spinosum epidermis, tempat konsentrasi air lebih tinggi dibandingkan dengan lapisan stratum korneum. Selain di epidermis, AQP3 juga dapat dideteksi kadarnya di fibroblas dermis yang mendukung proses regenerasi kulit dan penyembuhan luka.¹²

Keberadaan AQP3 yang tersebar di berbagai lapisan kulit menjadikannya elemen penting dalam pengaturan homeostasis air kulit dan fungsi *skin barrier*. Penurunan kadar AQP3 sering dikaitkan dengan kondisi kulit kering seperti *xerosis cutis* serta proses penuaan intrinsik dan ekstrinsik. Kondisi ini berdampak pada kemampuan kulit untuk mempertahankan kelembapan, elastisitas, dan memperbaiki jaringan yang rusak. Oleh karena itu, AQP3 menjadi target potensial untuk pengembangan terapi yang bertujuan meningkatkan hidrasi kulit dan memperbaiki fungsi *skin barrier*.¹²



Gambar 2.1 Distribusi Imunofluoresensi AQP3 Epidermis Manusia Normal.¹³

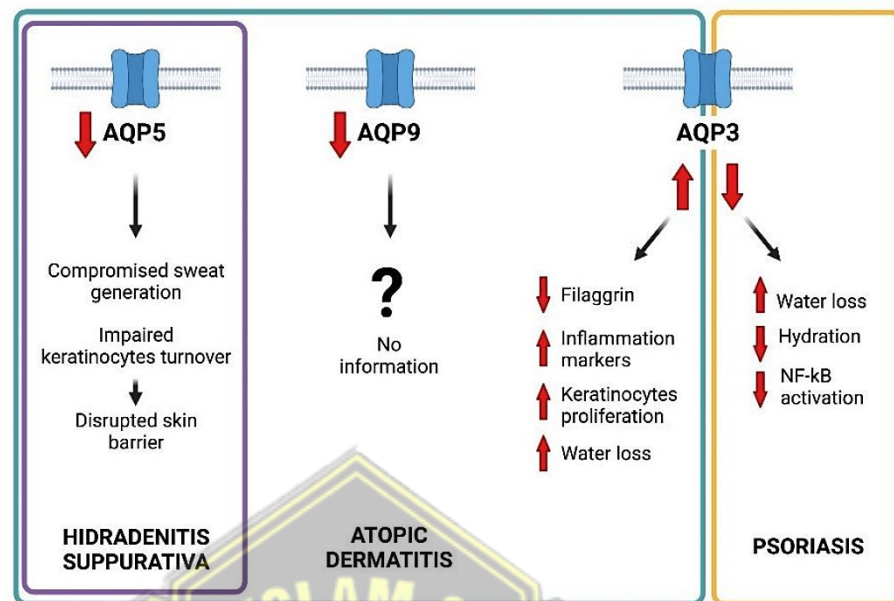
2.1.2 Struktur dan Fungsi

Aquaporin-3 (AQP3) adalah protein transmembran yang termasuk dalam kelompok aquaglyceroporins, yaitu subfamili aquaporin yang tidak hanya mengangkut air, tetapi juga molekul kecil seperti gliserol, urea, dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Protein ini memiliki struktur khas berupa saluran tetramer dengan masing-masing monomer yang membentuk jalur transpor independen. Struktur ini memungkinkan AQP3 untuk memfasilitasi pergerakan molekul-molekul tertentu melintasi membran biologis. AQP3 terutama ditemukan di membran basolateral berbagai jaringan epitel, termasuk pada keratinosit di epidermis kulit, epitel kolon, dan duktus pengumpul ginjal. Lokasi spesifik ini mendukung peran AQP3 dalam pengaturan hidrasi jaringan,

metabolisme sel, dan fungsi barrier. Pada kulit, AQP3 berperan penting dalam mempertahankan hidrasi epidermis dengan memfasilitasi pengangkutan air dan gliserol yang merupakan molekul kunci untuk menjaga kelembapan dan elastisitas kulit.¹⁴

Selain fungsi transportasi, AQP3 juga memiliki peran dalam regenerasi jaringan dan migrasi sel. Kemampuan AQP3 untuk mengangkut gliserol membantu dalam kadar lipid epidermis yang penting untuk menjaga integritas barrier kulit. Fungsi transport H₂O₂-nya berkontribusi dalam aktivasi jalur sinyal yang mendukung penyembuhan luka dan proliferasi sel. Dengan demikian, AQP3 tidak hanya bertanggung jawab atas hidrasi kulit, tetapi juga mendukung berbagai proses fisiologis yang berkaitan dengan fungsi barrier dan regenerasi kulit.¹⁴

Dari segi regulasi, AQP3 dapat diatur melalui modifikasi pascatranslasi seperti fosforilasi yang memengaruhi aktivitas dan distribusinya pada membran sel. Penurunan kadar AQP3 pada kulit sering dikaitkan dengan kondisi kulit kering, seperti *xerosis cutis* akan memperburuk fungsi barrier dan hidrasi kulit. Struktur unik dan fungsi multifungsional AQP3 menunjukkan peran kritisnya dalam menjaga homeostasis jaringan dan fungsi biologis, khususnya pada kulit menyebabkan target potensial untuk terapi berbasis hidrasi.¹⁴

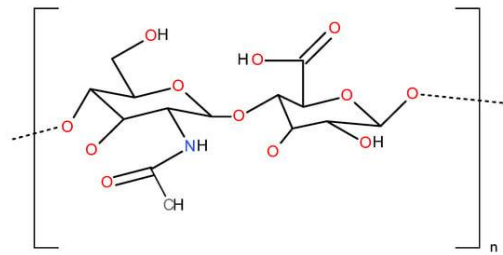


Gambar 2.2 Fungsi Aquaporin-3 pada Atopic Dermatitis dan Psoriasis.¹³

2.2 Hyaluronic Acid (HA)

2.2.1 Definisi dan Lokasi

Hyaluronic Acid (HA) adalah polisakarida linier alami yang tergolong dalam glikosaminoglikan. Molekul ini terdiri dari unit pengulangan disakarida, yaitu asam glukuronat dan N-asetilglukosamin dihubungkan oleh ikatan glikosidik $\beta(1,3)$ dan $\beta(1,4)$.¹⁵ *Hyaluronic Acid* ditemukan secara melimpah di matriks ekstraseluler jaringan ikat manusia, termasuk kulit pada bagian dermis, mata (humor vitreus), jaringan sinovial, dan tali pusat. Dalam tubuh manusia, sekitar 50% HA terkonsentrasi di kulit berperan penting dalam menjaga kelembapan, elastisitas, dan fungsi penghalang kulit.¹⁶



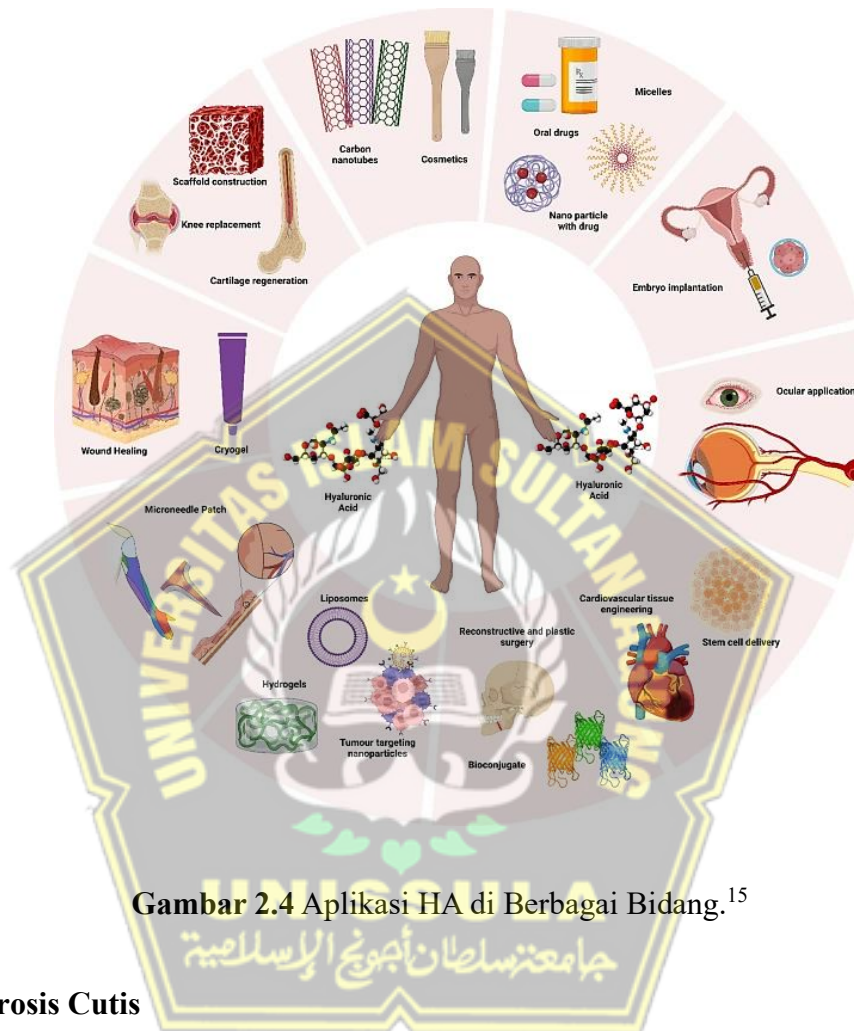
Gambar 2.3 Struktur *Hyaluronic Acid*.¹⁶

2.2.2 Struktur dan Fungsi

Secara struktural, HA bersifat hidrofilik karena bermuatan negatif, memungkinkan pembentukan gel viskoelastik di lingkungan berair. Struktur unik ini membuat HA ideal untuk fungsi biologis seperti pelumasan, transportasi air, dan perbaikan jaringan. HA hadir dalam berbagai berat molekul, dari rendah (*Low Molecular Weight/LMW*) hingga tinggi (*High Molecular Weight/HMW*), masing-masing memiliki fungsi spesifik. HA dengan berat molekul rendah menembus lapisan kulit lebih efektif, sedangkan HA dengan berat molekul tinggi membentuk lapisan pelindung pada permukaan kulit.¹⁵

Fungsi HA mencakup hidrasi jaringan, viskoelastisitas, dan mendukung migrasi serta proliferasi sel, terutama dalam proses penyembuhan luka. Interaksi HA dengan reseptor seperti CD44 dan RHAMM menunjukkan perannya dalam regulasi sinyal seluler, inflamasi, dan regenerasi jaringan. Kemampuan HA untuk meningkatkan regenerasi jaringan serta memberikan perlindungan

mekanis menjadikannya komponen penting dalam aplikasi kosmetik, seperti filler dermal, dan dalam pengobatan osteoarthritis.^{15,16}



Gambar 2.4 Aplikasi HA di Berbagai Bidang.¹⁵

2.3 Xerosis Cutis

2.3.1 Definisi

Xerosis cutis adalah kondisi kulit kering yang sering terjadi pada populasi lansia. Kondisi ini ditandai oleh hilangnya kelembapan pada lapisan stratum korneum mengakibatkan gangguan fungsi barrier kulit. *Xerosis cutis* dapat menyebabkan kulit menjadi kasar, bersisik, dan terkadang pecah-pecah, serta dapat menimbulkan rasa gatal, perih, dan ketidaknyamanan lainnya. Kondisi ini juga sering menjadi indikator

kesehatan umum seseorang, karena sering dikaitkan dengan berbagai penyakit sistemik, seperti diabetes mellitus, gangguan ginjal, atau hipertensi.¹⁷

2.3.2 Faktor Penyebab

Penyebab *xerosis cutis* bersifat multifaktorial dan dapat dikelompokkan menjadi faktor internal dan eksternal. Secara internal, proses penuaan menyebabkan penurunan hidrasi stratum korneum, peningkatan pH kulit, berkurangnya aktivitas kelenjar sebaceous dan kelenjar keringat, serta peningkatan *Trans Epidermal Water Loss* (TEWL). Perubahan ini membuat kulit lebih rentan terhadap iritan, alergen, dan patogen lingkungan. Faktor eksternal seperti paparan suhu rendah, kelembapan rendah, penggunaan sabun atau deterjen yang keras, serta pemakaian obat-obatan tertentu (misalnya diuretik atau statin) juga berkontribusi terhadap terjadinya *xerosis cutis*.^{17,18}

Selain itu, induksi bahan kimia seperti aseton dan etanol juga telah digunakan dalam berbagai penelitian untuk mensimulasikan kondisi kulit kering eksperimental ditandai oleh kerusakan lapisan lipid stratum korneum dan peningkatan kehilangan air transepidermal (TEWL). Studi oleh Lee dan Shim (2021)¹⁹ menunjukkan bahwa kombinasi aseton dan etanol yang diikuti dengan air dapat secara efektif digunakan untuk menciptakan model kulit kering pada tikus yang secara fisiologis menyerupai kondisi *xerosis cutis*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini induksi aseton dan etanol digunakan untuk meniru kondisi *xerosis cutis*

guna mengevaluasi efektivitas krim ekstrak mentimun dalam memperbaiki gangguan *skin barrier* dan hidrasi kulit.

Aseton dan etanol digunakan dalam model *xerosis cutis* karena kemampuannya menyebabkan dehidrasi ekstraseluler, disrupsi lipid epidermal, serta kerusakan matriks ekstraseluler yang mengandung *Hyaluronic Acid* (HA). Paparan aseton dan etanol tidak hanya menghilangkan air dan lipid dari kulit, tetapi juga meningkatkan aktivitas enzim hyaluronidase, yang mempercepat degradasi HA. Kondisi ini menyebabkan penurunan kemampuan kulit dalam mempertahankan hidrasi dan elastisitas. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, aseton dan etanol dipilih sebagai agen induksi untuk mengganggu homeostasis HA dan menciptakan model *xerosis cutis* yang sesuai untuk mengevaluasi efek terapi topikal.^{18,20}

2.3.2 Patofisiologi

Xerosis cutis ditandai oleh gangguan hidrasi kulit akibat disfungsi *skin barrier*, terutama pada stratum korneum. Stratum korneum tersusun atas korneosit dan matriks lipid interseluler yang berperan dalam mempertahankan kelembapan serta homeostasis kulit. Kondisi *xerosis* ditandai oleh defisiensi lipid epidermis, termasuk *ceramide*, *free fatty acids* (FFA), dan kolesterol, sehingga struktur lipid lamelar terganggu dan *transepidermal water loss* (TEWL) meningkat.²¹

Paparan topikal campuran aseton dan etanol menyebabkan *xerosis cutis* melalui disrupsi integritas *skin barrier*, khususnya dengan melarutkan lipid pada lapisan stratum korneum. Kerusakan pada lapisan lipid ini meningkatkan kehilangan air transepidermal (*transepidermal water loss*/TEWL) dan menyebabkan disfungsi hidrasi epidermis. Akibatnya, terjadi penurunan kadar Aquaporin-3 (AQP3), yaitu protein saluran air utama di epidermis, serta berkurangnya kadar Hyaluronic Acid (HA), glikosaminoglikan yang bertanggung jawab menjaga kelembapan kulit. Penurunan kedua komponen ini memperparah kondisi kulit kering dan menghambat fungsi regeneratif jaringan kulit.^{19,21} AQP3 berfungsi sebagai transporter air dan gliserol, sedangkan HA mempertahankan kelembapan kulit melalui daya ikatnya terhadap molekul air. Defisiensi AQP3 menghambat transportasi air dan gliserol, sehingga hidrasi stratum korneum berkurang dan TEWL meningkat.^{3,21,22}

Secara molekuler, kadar AQP3 dikendalikan oleh faktor transkripsi p53 dan PPAR- γ , tetapi aktivitasnya terhambat akibat stres oksidatif dan aktivasi jalur inflamasi NF- κ B.³ Aktivasi NF- κ B akibat stres lingkungan atau inflamasi meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-1 β yang menurunkan kadar AQP3 serta mengganggu mekanisme hidrasi kulit.^{3,13,22} Selain itu, peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat stres oksidatif berkontribusi terhadap degradasi

lipid stratum korneum dan penurunan *Hyaluronan Synthase* (HAS), yaitu enzim yang berperan dalam sintesis HA.²³

Kadar HA dalam epidermis dikendalikan oleh keseimbangan aktivitas HAS dan degradasinya oleh hyaluronidase. Pada kondisi xerosis, peningkatan kadar hyaluronidase menyebabkan kadar HA menurun, sehingga kapasitas kulit untuk mempertahankan kelembapan berkurang. Ketidakseimbangan ini berdampak pada gangguan proliferasi keratinosit, memperlambat regenerasi *skin barrier*, serta meningkatkan kerentanan kulit terhadap iritan dan patogen.^{16,21,24}

Gangguan hidrasi yang berlangsung terus-menerus memicu akumulasi sitokin proinflamasi, termasuk IL-1 β , IL-6, dan TNF- α yang merusak struktur ekstraseluler matriks (ECM) dan mempercepat penuaan kulit.²³ Secara keseluruhan, gangguan lipid epidermis, penurunan kadar AQP3 dan HA, serta aktivasi jalur inflamasi berkontribusi terhadap patofisiologi *xerosis cutis* yang ditandai oleh disfungsi *skin barrier*, peningkatan TEWL, dan inflamasi kronis.^{3,21,23–}

25

2.3.4. Penilaian Xerosis Cutis

Penilaian tingkat keparahan *xerosis cutis* dapat dilakukan menggunakan berbagai metode, salah satunya adalah *Overall Dry Skin Score* (ODS) yang digunakan secara luas dalam penelitian dermatologi. *Overall Dry Skin Score* merupakan sistem skoring

berbasis observasi visual yang menilai tingkat kekeringan kulit berdasarkan tanda-tanda klinis seperti pengelupasan (*scaling*), kekasaran (*roughness*), retakan (*cracks*), dan perubahan warna kulit. Skala ini memungkinkan klasifikasi *xerosis cutis* dari kulit normal hingga kondisi ekstrim yang disertai peradangan dan retakan yang nyata.^{7,21} Berikut tabel penilaian ODS:

Tabel 2.1 Penilaian ODS.^{7,21}

Skor ODS	Keterangan
0	Kulit normal, tidak ada tanda kekeringan.
1	Menunjukkan kulit kering ringan dengan tanda sedikit sisik, kulit agak kasar, dan tampak kusam.
2	Menunjukkan kulit kering sedang dengan tanda Timbul sisik kecil dan beberapa sisik besar, tekstur sedikit kasar, dan kulit tampak putih pucat.
3	Menunjukkan kulit kering berat dengan tanda sisik kecil dan besar tersebar merata, kulit terasa jelas kasar, mungkin ada kemerahan ringan, dan beberapa retakan superfisial.
4	Menunjukkan xerosis sangat parah, ditandai dengan kulit sangat kasar, adanya peradangan, sisik besar, dan pecah-pecah.

Keterangan:

- Skor 0: Kulit normal, tidak ada tanda kekeringan.
- Skor 1: Menunjukkan kulit kering ringan.
- Skor 2: Menunjukkan kulit kering sedang.
- Skor 3: Menunjukkan kulit kering berat.

- Skor 4: Menunjukkan xerosis sangat parah, ditandai dengan kulit sangat kasar, adanya peradangan, sisik besar, dan pecah-pecah.^{7,21}

2.3.5 Dampak *Xerosis Cutis* terhadap *Skin Barrier* dan Hidrasi Kulit

Xerosis cutis atau kulit kering memiliki dampak signifikan terhadap *skin barrier* dan hidrasi kulit. Kondisi ini ditandai dengan penurunan fungsi *skin barrier* yang mengakibatkan kulit kehilangan kemampuan untuk mempertahankan kelembapan, sehingga terjadi peningkatan *Trans Epidermal Water Loss* (TEWL). Penurunan hidrasi ini membuat kulit menjadi kasar, bersisik dan sering kali muncul retakan kecil pada permukaannya.²⁶

Gangguan pada *skin barrier* akibat *xerosis cutis* meningkatkan kerentanan kulit terhadap iritan, alergen dan patogen dari lingkungan. Mikroretakan muncul pada permukaan kulit mempermudah masuknya zat-zat asing yang dapat memicu peradangan dan memperburuk kondisi kulit. Akibatnya, kulit tidak hanya kehilangan kelembapan tetapi juga mengalami inflamasi yang dapat menyebabkan gatal, perih dan ketidaknyamanan lainnya.²⁶

Xerosis cutis juga berdampak pada regenerasi kulit yang terhambat karena kerusakan struktur lipid di lapisan epidermis. Kondisi ini memperpanjang waktu pemulihan kulit yang rusak jika tidak ditangani dengan baik. Oleh karena itu, manajemen *xerosis cutis* memerlukan pendekatan untuk mengembalikan hidrasi kulit dan memperbaiki struktur *skin barrier* agar fungsi perlindungan kulit dapat pulih secara optimal.²⁶

2.4 Mentimun (*Cucumis sativus*)

2.4.1 Definisi dan Taksonomi

Mentimun (*Cucumis sativus*) adalah tanaman dari famili *Cucurbitaceae*, subfamili *Cucurbitoideae*, dan genus *Cucumis*. Spesies ini merupakan salah satu tanaman merambat yang paling banyak dibudidayakan di dunia. Berdasarkan taksonominya, mentimun termasuk dalam jenis *Cucumis sativus* L. dengan kromosom diploid berjumlah 14. Mentimun berasal dari India, khususnya di kaki bukit Himalaya, dan telah dibudidayakan selama lebih dari 3.000 tahun. Penyebarannya mencakup wilayah Asia, Timur Tengah, Eropa, hingga Amerika melalui jalur perdagangan kuno. Mentimun memiliki beberapa varietas seperti *slicing* (untuk dimakan segar), *pickling* (untuk pengawetan), dan *seedless/burpless* (tanpa biji).²⁷

Dalam konteks botani, mentimun dikenal sebagai tanaman tahunan yang memiliki batang merambat dengan daun besar berbentuk segitiga-oval. Bunganya berwarna kuning, dengan bunga jantan dan betina

tumbuh pada tanaman yang sama (*monoecious*). Buahnya berbentuk silinder dengan ukuran bervariasi, tergantung pada varietasnya. Kandungan air yang tinggi, yaitu mencapai 97%, membuat mentimun menjadi bahan alami yang sering digunakan untuk hidrasi kulit. Selain itu, mentimun juga dikenal memiliki kandungan nutrisi seperti vitamin A, potasium, dan antioksidan yang bermanfaat untuk kesehatan kulit serta sebagai bahan dalam kosmetik dan pengobatan tradisional.²⁷

2.4.2 Fungsi

Mentimun (*Cucumis sativus*) memiliki berbagai fungsi yang mendukung hidrasi dan perbaikan kulit terutama pada kondisi *xerosis cutis*. Kandungan air yang tinggi mencapai sekitar 95% menjadikannya pelembap alami yang efektif. Selain itu, mentimun kaya akan senyawa bioaktif seperti vitamin C dan flavonoid yang memiliki sifat antiinflamasi, antioksidan, dan regenerasi kulit. Fungsi ini membantu mengurangi kekeringan, iritasi, dan inflamasi yang sering terjadi pada kulit kering. Penelitian menunjukkan bahwa mentimun juga berperan dalam meningkatkan elastisitas kulit dan memperbaiki tekstur kulit melalui regulasi produksi sebum yang membantu mencegah kulit terlalu kering atau berminyak.^{6,27,28}

2.4.3 Mekanisme Kerja Mentimun pada *Xerosis cutis*

Mentimun bekerja pada kondisi *xerosis cutis* melalui dua mekanisme utama melibatkan kadar aquaporin-3 (AQP3) dan kadar

Hyaluronic Acid (HA). Kandungan aktif seperti flavonoid dan vitamin C dalam mentimun terbukti mampu meningkatkan kadar AQP3 di epidermis. AQP3 berperan penting dalam transportasi air dan gliserol yang mendukung hidrasi kulit serta memperkuat fungsi *skin barrier*. Peningkatan kadar AQP3 dapat mengurangi *trans epidermal water loss* (TEWL) yang menjadi salah satu penyebab utama *xerosis cutis*.^{28,29}

Pada kondisi *xerosis cutis* kadar aquaporin-3 (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA) di kulit menurun akibat berbagai faktor intrinsik seperti penuaan dan perubahan hormon serta faktor ekstrinsik seperti stres oksidatif akibat paparan sinar UV. Penurunan AQP3 menyebabkan gangguan transportasi air dan gliserol di epidermis yang mengakibatkan peningkatan *Trans Epidermal Water Loss* (TEWL), dehidrasi kulit serta penurunan elastisitas dan integritas *skin barrier*. Hal ini memperparah gejala *xerosis* derajat II dengan meningkatkan risiko iritasi, keretakan, dan kerusakan kulit. Sementara itu, penurunan kadar HA di epidermis dan dermis terjadi akibat penurunan aktivitas enzim hyaluronan synthase (HAS) dan peningkatan aktivitas hyaluronidase yang mempercepat degradasi HA. Kekurangan HA menyebabkan kulit kehilangan kemampuannya untuk mengikat dan mempertahankan air sehingga memperburuk dehidrasi kulit dan memperlemah *skin barrier*.^{14-16,22,24,30}

Aplikasi krim berbahan mentimun (*Cucumis sativus*) yang mengandung vitamin C dan flavonoid berperan dalam memperbaiki

kondisi tersebut melalui mekanisme molekuler yang mendukung hidrasi kulit dan regenerasi *skin barrier*. Vitamin C dalam mentimun meningkatkan kadar AQP3 di epidermis melalui aktivasi jalur transkripsi seperti PPAR- γ yang mengoptimalkan transportasi air dan gliserol di epidermis. Selain itu, flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang mengurangi stres oksidatif, mencegah kerusakan lebih lanjut pada AQP3 dan melindungi kulit dari efek negatif paparan UV. Dalam konteks kadar HA, vitamin C juga mengaktivasi enzim HAS (*Hyaluronan Synthase*, yaitu enzim yang berperan dalam sintesis HA di dalam tubuh, terutama di epidermis) untuk meningkatkan produksi HA di epidermis sedangkan flavonoid mencegah degradasi HA dengan menghambat aktivitas hyaluronidase. Kombinasi aktivitas ini meningkatkan kadar AQP3 dan HA, mengurangi TEWL dan memperbaiki elastisitas kulit. Hasil akhirnya adalah pemulihan hidrasi kulit yang optimal, perbaikan fungsi *skin barrier* dan regenerasi struktur epidermis yang lebih sehat.^{3,6,15,16,22,24,27,28,30}

Dengan mekanisme molekuler ini mentimun tidak hanya berfungsi sebagai pelembap alami tetapi juga mendukung pemulihan hidrasi kulit secara holistik melalui peningkatan kadar AQP3 dan HA. Sinergi antara kedua komponen ini menjadikan mentimun sebagai bahan yang efektif dalam mengatasi *xerosis cutis* derajat II, meningkatkan elastisitas kulit dan memperkuat *skin barrier* untuk melindungi kulit dari kerusakan lebih lanjut.

2.5 Sediaan Krim

2.5.1 Definisi

Krim merupakan sediaan topikal berbentuk semi-padat yang umumnya digunakan untuk aplikasi pada kulit. Sediaan ini didefinisikan sebagai emulsi viskos yang terdiri atas minyak dalam air (*oil in water*/O/W) atau air dalam minyak (*water in oil*/W/O). Penggunaan krim meliputi fungsi kosmetik seperti pembersih, pelembap, dan pelindung kulit, serta aplikasi terapeutik untuk berbagai kondisi dermatologis. Krim dirancang untuk memberikan efek lokal pada kulit atau membran mukosa secara efisien dan spesifik, menjadikannya salah satu bentuk sediaan farmasi yang paling populer.³¹

2.5.2 Jenis-jenis Sediaan Krim

Berdasarkan tipe emulsi, krim dapat dikategorikan menjadi dua jenis utama. Krim *oil in water* (O/W) terdiri atas tetesan minyak yang tersebar dalam fase air kontinu, sehingga cocok untuk aplikasi sehari-hari karena mudah menyerap dan tidak meninggalkan residu berminyak. Sebaliknya, krim *water in oil* (W/O) memiliki tetesan air yang tersebar dalam fase minyak kontinu, memberikan perlindungan intensif dan sangat cocok untuk kulit kering. Selain itu, krim juga dapat dikelompokkan berdasarkan fungsi, seperti krim pelembap untuk melembutkan kulit, krim pembersih untuk menghilangkan kotoran, krim pelindung untuk

melindungi kulit dari iritasi eksternal, dan krim kosmetik seperti alas bedak atau krim malam.³¹

2.5.3 Komponen Sediaan Krim

Dalam formulasi krim, berbagai komponen utama digunakan untuk memastikan efektivitas dan stabilitas produk. Air menjadi pelarut utama sekaligus pengisi dalam emulsi, sedangkan minyak, lemak, dan lilin seperti minyak mineral dan lilin lebah berperan sebagai emolien, pengemulsi, dan pengental. Komponen lain seperti humektan, contohnya gliserin dan urea, berfungsi menarik kelembapan dari lingkungan ke kulit. Pengawet juga ditambahkan untuk mencegah kontaminasi mikroba selama penyimpanan, sementara pewarna dan pewangi digunakan untuk meningkatkan daya tarik estetika dan memberikan aroma yang menyenangkan. Dengan kombinasi bahan ini, krim mampu memberikan manfaat yang optimal untuk perawatan kulit sehari-hari maupun untuk aplikasi medis.³¹

2.6 Model Tikus Wistar

2.6.1 Definisi dan Karakteristik

Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu model hewan yang paling sering digunakan dalam penelitian biomedis karena karakteristik genetik dan fisiologinya yang mirip dengan manusia. Tikus Wistar memiliki keunggulan berupa ukuran tubuh yang cukup besar sehingga mempermudah manipulasi eksperimental, serta kemampuan reproduksi yang tinggi dan siklus hidup yang relatif singkat,

memungkinkan pengamatan hasil penelitian dalam waktu yang efisien.^{32,33} Secara anatomi, tikus Wistar memiliki struktur kulit yang menyerupai kulit manusia, terutama dalam hal susunan epidermis dan dermis.

2.6.2 Keunggulan Penggunaan Tikus Wistar Betina pada *Xerosis cutis*

Penggunaan tikus Wistar betina sebagai model hewan untuk penelitian *xerosis cutis* memberikan berbagai keuntungan. Tikus ini memungkinkan simulasi kondisi *xerosis cutis* melalui manipulasi lingkungan atau perlakuan topikal tertentu, seperti aplikasi ultraviolet B (UVB) atau agen kimia yang merusak *skin barrier*. Studi menunjukkan bahwa paparan UVB pada tikus Wistar betina dapat meningkatkan *transepidermal water loss* (TEWL) dan menurunkan densitas kolagen dermis merupakan karakteristik utama *xerosis cutis* derajat II.³³ Selain itu, tikus Wistar betina dipilih karena memiliki kesamaan fisiologis yang lebih dekat dengan kulit manusia dibandingkan dengan model hewan lainnya.³²

Perbedaan hormonal antara tikus Wistar jantan dan betina juga menjadi pertimbangan penting dalam pemilihan model ini, mengingat hormon estrogen pada tikus betina dapat memengaruhi metabolisme kulit, produksi lipid epidermis, serta pemulihan *skin barrier* yang semuanya berperan dalam proses hidrasi kulit dan perbaikan *xerosis cutis* derajat II. Dari aspek eksperimental, tikus Wistar memiliki ukuran tubuhnya yang relatif besar memungkinkan pengambilan sampel

jaringan kulit yang lebih banyak, sehingga meningkatkan akurasi analisis histologis dan biokimiawi. Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa respons kulit tikus betina terhadap aplikasi topikal lebih stabil dibandingkan dengan tikus jantan cenderung memiliki variabilitas lebih tinggi akibat perbedaan hormonal.^{8,9}



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Penelitian ini berfokus pada efektivitas krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dalam meningkatkan kadar Aquaporin-3 (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA) serta memperbaiki hidrasi kulit dan *skin barrier* pada kondisi *xerosis cutis* derajat II. *Xerosis cutis* derajat II merupakan kondisi kulit kering kronis yang ditandai dengan gangguan fungsi *skin barrier*, peningkatan kehilangan air transepidermal (*transepidermal water loss* / TEWL), serta penurunan hidrasi pada stratum korneum akan memicu terjadinya reaksi inflamasi. Dalam penelitian ini, faktor eksternal yang mempengaruhi *xerosis* dimodelkan dengan induksi aseton dan etanol yang diketahui dapat menghilangkan lipid epidermis dan menyebabkan gangguan keseimbangan hidrasi kulit, sehingga meniru kondisi *xerosis cutis* secara eksperimental.^{3,6,7,17,19,21,26}

Aquaporin-3 (AQP3) merupakan protein transmembran yang berperan penting dalam transportasi air dan gliserol di epidermis. *Aquaporin-3* (AQP3) memfasilitasi pengangkutan air dan gliserol yang dibutuhkan untuk hidrasi kulit, di mana gliserol berperan sebagai humektan alami yang menarik kelembapan dari lingkungan dan lapisan kulit yang lebih dalam ke permukaan.^{3,22,34} Penurunan kadar AQP3 menyebabkan gangguan hidrasi kulit, peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β ,

serta penurunan sintesis filaggrin dan lipid epidermis yang penting dalam menjaga *skin barrier*. Dengan peranannya ini, AQP3 mendukung hidrasi kulit dan mengurangi TEWL yang merupakan indikator dehidrasi kulit.³

Hyaluronic Acid (HA) merupakan komponen humektan alami yang berfungsi menarik dan mempertahankan molekul air pada jaringan kulit. Dalam kondisi normal, HA berkontribusi hingga 50% dari total glikosaminoglikan di dermis dan epidermis. Namun, pada kondisi *xerosis cutis* kadar HA alami di epidermis menurun sehingga berdampak langsung pada kemampuan kulit untuk mempertahankan kelembapan dan integritas *skin barrier*. Defisiensi HA pada kondisi *xerosis cutis* dapat meningkatkan TEWL, menghambat regenerasi epidermis, serta memperburuk kondisi kulit kering.^{3,14,15,24}

Penurunan kadar AQP3 dan HA pada kondisi *xerosis cutis* dapat terjadi akibat berbagai faktor, seperti penuaan intrinsik, paparan sinar ultraviolet (UV), dan kondisi patologis tertentu. Penuaan intrinsik mengurangi kadar enzim *hyaluronan synthase* (HAS) yang bertanggung jawab untuk sintesis HA. Sementara itu, paparan UV meningkatkan aktivitas enzim *hyaluronidase* yang memecah HA, mempercepat degradasi molekul ini di jaringan kulit.^{15,22}

Secara molekuler, kondisi *xerosis cutis* yang diinduksi aseton dan etanol menyebabkan peningkatan TEWL, menurunkan kadar AQP3 dan HA melalui jalur inflamasi berbasis IL-6 dan penghambatan enzim HAS.

Intervensi krim ekstrak mentimun diharapkan mampu menekan ROS melalui aktivitas antioksidan vitamin C dan flavonoid yang mengaktifasi jalur Nrf2 serta enzim pelindung seperti SOD, GPX, dan CAT. Dengan mengurangi stres oksidatif, kadar AQP3 dan kadar HA dapat dipulihkan, sehingga fungsi hidrasi kulit dan *skin barrier* dapat ditingkatkan secara signifikan.^{3,19,21,22}

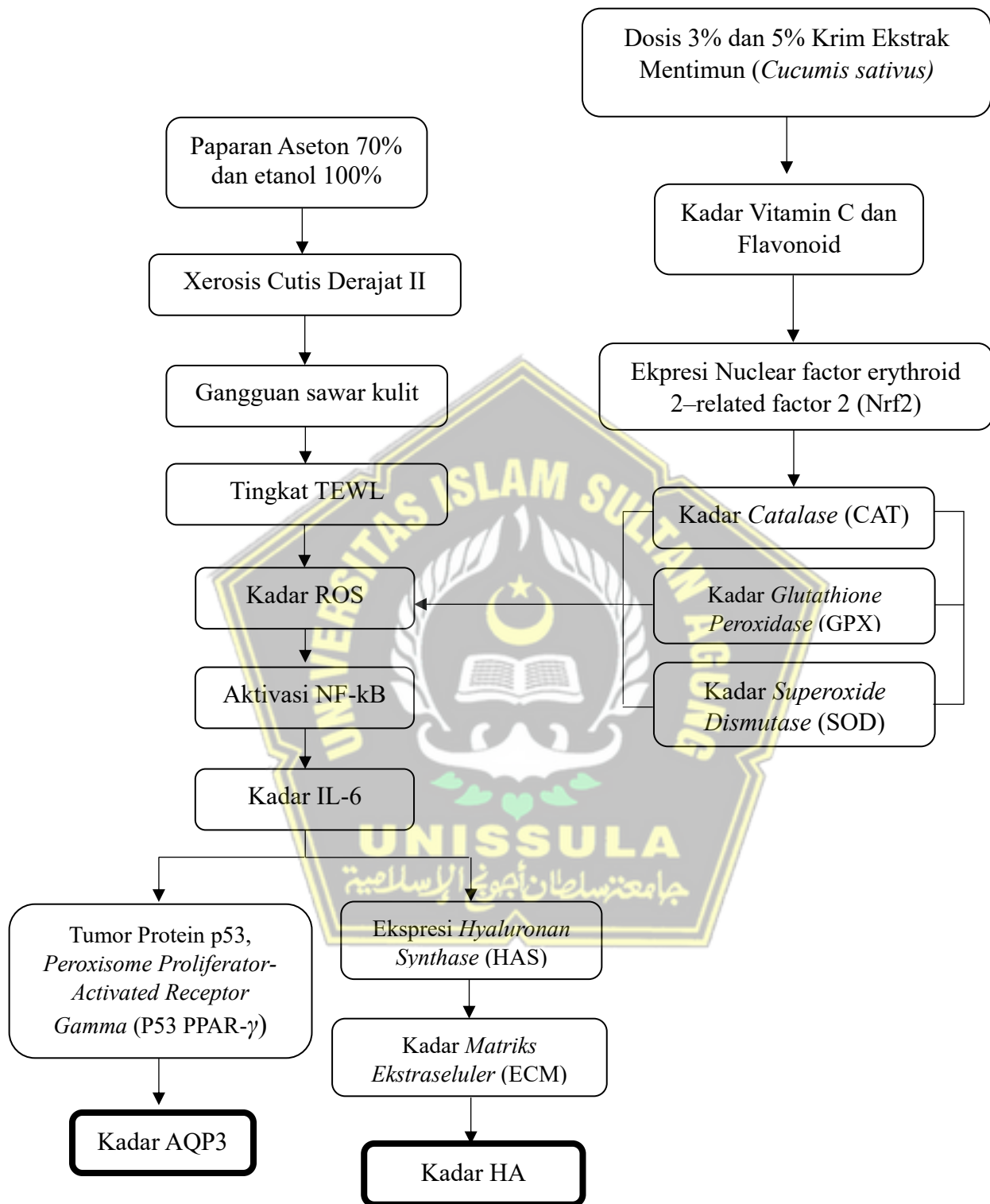
Sebagai intervensi, digunakan krim ekstrak mentimun yang mengandung vitamin C dan flavonoid. Vitamin C diketahui dapat mengaktifasi enzim *hyaluronan synthase* (HAS) yang berperan dalam sintesis HA, sedangkan flavonoid dapat mencegah degradasi HA dengan menghambat aktivitas enzim hyaluronidase. Kombinasi kedua mekanisme ini diharapkan dapat meningkatkan kadar AQP3 dan HA sehingga mampu memperbaiki hidrasi kulit serta memperkuat *skin barrier*. Penelitian ini juga membandingkan dua konsentrasi ekstrak mentimun, yaitu 3% dan 5%, untuk mengevaluasi pengaruh dan dosis optimal dalam meningkatkan hidrasi kulit tanpa menimbulkan efek samping.^{6,15,16,35,36}

Aplikasi krim berbahan mentimun (*Cucumis sativus*) yang mengandung vitamin C dan flavonoid berperan dalam memperbaiki kondisi tersebut melalui mekanisme molekuler yang mendukung hidrasi kulit dan regenerasi *skin barrier*. Vitamin C dalam mentimun meningkatkan kadar AQP3 di epidermis melalui aktivasi jalur transkripsi seperti PPAR- γ yang mengoptimalkan transportasi air dan gliserol di epidermis. Flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang mengurangi stres oksidatif, mencegah

kerusakan lebih lanjut pada AQP3 dan melindungi kulit dari efek negatif paparan UV. Vitamin C juga mengaktivasi enzim HAS (*Hyaluronan Synthase*, yaitu enzim yang berperan dalam sintesis HA di dalam tubuh, terutama di epidermis) untuk meningkatkan produksi HA di epidermis sedangkan flavonoid mencegah degradasi HA dengan menghambat aktivitas hyaluronidase. Kombinasi aktivitas ini meningkatkan kadar AQP3 dan HA, mengurangi TEWL dan memperbaiki elastisitas kulit. Hasil akhirnya adalah pemulihan hidrasi kulit yang optimal, perbaikan fungsi *skin barrier* dan regenerasi struktur epidermis yang lebih sehat.^{3,6,15,16,22,24,27,28,30}

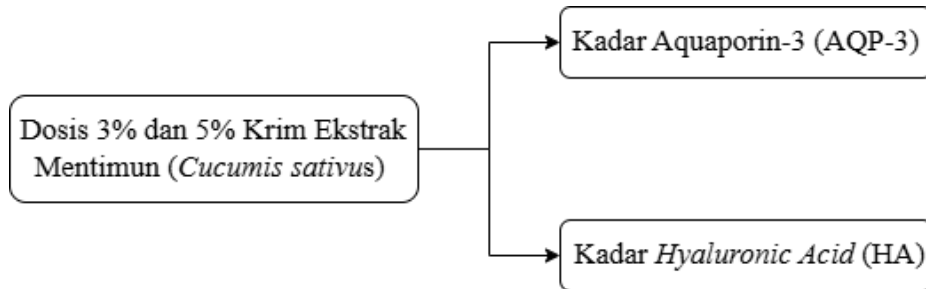
Vitamin C dan flavonoid meningkatkan kadar AQP3 melalui penghambatan stres oksidatif dan inflamasi. Vitamin C sebagai antioksidan kuat mampu menetralkan ROS dan memicu aktivasi jalur Nrf2, meningkatkan ekspresi gen pelindung termasuk AQP3. flavonoid seperti quercetin juga diketahui dapat mengurangi ekspresi molekul inflamasi dan meningkatkan ekspresi AQP3 dengan menstabilkan membran sel dan memperbaiki mikrolingkungan epidermis. Kedua senyawa ini tidak hanya melindungi kulit dari kerusakan oksidatif, tetapi juga secara langsung berkontribusi dalam pemulihan kadar AQP3, sehingga mendukung perbaikan hidrasi kulit dan fungsi *skin barrier*.^{6,15,16,35,36}

AQP3 dan HA digunakan sebagai parameter utama dalam penelitian ini untuk menilai pengaruh krim ekstrak mentimun dalam memperbaiki hidrasi kulit dan fungsi *skin barrier* pada kondisi *xerosis cutis* derajat II.



Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep.

3.3 Hipotesis

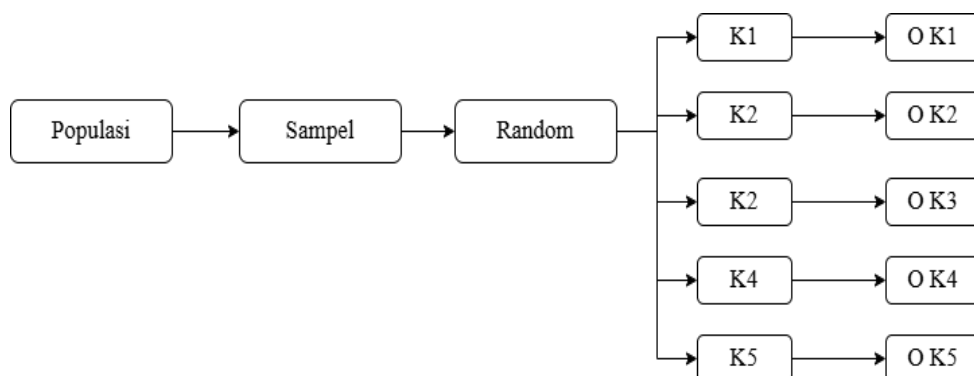
Terdapat pengaruh krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) pada dosis 3% dan 5% terhadap kadar Aquaporin-3 dan *Hyaluronic Acid* pada tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan *post test only control group design* menggunakan tikus Wistar betina.³⁷ Metode ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar Aquaporin-3 (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA) pada tikus Wistar betina yang diinduksi *xerosis cutis* derajat II. Subjek penelitian dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok tikus sehat, kelompok kontrol negatif yaitu tikus Wistar Betina model *xerosis cutis* tanpa pemberian krim apapun, kelompok kontrol positif yang diinduksi *xerosis cutis* dengan krim standar kasus *xerosis cutis*, yaitu *ceramide* 10%, serta dua kelompok perlakuan yang menerima aplikasi krim ekstrak mentimun dalam dosis tertentu. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pembagian kelompok sebagai berikut:



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.

1. **K1** : Tikus Wistar betina tanpa perlakuan *xerosis cutis* derajat II (tikus sehat).
2. **K2** : Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar.
3. **K3** : Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar dan diolesi *ceramide* 10%.
4. **K4**: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar dan diolesi krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) 3%.
5. **K5** : Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar dan diolesi krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) 5%.

Kelompok K1 digunakan sebagai kontrol normal, yaitu tikus wistar betina tanpa perlakuan perlakuan *xerosis cutis* derajat II. Kelompok K2 sebagai kontrol negatif tidak menerima intervensi selain pakan standar, sehingga tetap mengalami *xerosis cutis* derajat II. Kelompok ini digunakan untuk mengamati perkembangan alami *xerosis cutis* tanpa pengobatan dan memastikan bahwa perubahan kondisi kulit pada kelompok lain disebabkan oleh perlakuan yang diberikan.⁹ Kelompok K3 sebagai kontrol positif diberikan *ceramide* 10% memperbaiki *skin barrier* dan hidrasi kulit. Kelompok ini berfungsi sebagai pembanding efektivitas krim ekstrak mentimun terhadap terapi standar yang sudah diakui dalam dermatologi.³⁸

Kelompok K4 menerima krim ekstrak mentimun 3%, dosis terendah yang masih memiliki efek hidrasi, berdasarkan penelitian sebelumnya. Tujuannya untuk mengevaluasi apakah dosis rendah sudah cukup efektif dalam memperbaiki *xerosis cutis* dibandingkan dengan kontrol positif.³⁶ Kelompok K5 diberikan krim ekstrak mentimun 5% yang dipilih sebagai dosis maksimal yang aman tanpa efek samping. Dosis ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan kandungan vitamin C dan flavonoid dalam mentimun dapat membantu perbaikan *skin barrier*.³⁵

Dengan demikian, perbandingan K4 dan K5 membantu menilai apakah peningkatan dosis memberikan manfaat tambahan atau meningkatkan risiko efek samping. Jika K5 lebih efektif, dosis lebih tinggi direkomendasikan, tetapi jika tidak ada perbedaan signifikan, maka dosis 3% dianggap optimal tanpa risiko berlebih.

4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terdiri dari dosis 3% dan 5%.

2. Variabel Terikat

- a. Kadar Aquaporin-3 (AQP3).
- b. Kadar *Hyaluronic Acid* (HA).

4.2.2 Definisi Operasional

4.2.2.1 Krim Ekstrak Mentimun

Sediaan topikal berbasis ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) konsentrasi 5% (O/W) yang diformulasikan dengan komposisi ekstrak mentimun, vaselin putih, parafin cair, dan pengawet. Basis krim (*raw material cosmetical grade*) diperoleh dari *PT. Derma Elok Farma*; ekstrak mentimun (3% dan 5%) diperoleh dari *Mensa Group*. Krim ini digunakan sebagai perlakuan topikal untuk meningkatkan hidrasi kulit dan mengurangi inflamasi. Aplikasi krim meningkatkan hidrasi kulit kadar AQP3 dan kadar HA dibandingkan kelompok kontrol.

Satuan : mg (miligram)

Skala : Ordinal

4.2.2.2 Kadar Aquaporin-3 (AQP3)

Tingkat kadar protein transmembran Aquaporin-3 (AQP3) diukur pada spesimen jaringan epidermis tikus Wistar betina menggunakan metode ELISA. Pengukuran dilakukan pada hari ke-15 dengan metode ELISA di Laboratorium *Integrated Biomedical Laboratories* FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Tujuan pengukuran untuk menilai perubahan kadar AQP3 sebagai indikator hidrasi kulit.

Satuan: ng/mL (nanogram/mL)

Skala: Rasio

4.2.2.3 Kadar *Hyaluronic Acid* (HA)

Kadar Hyaluronic Acid pada jaringan kulit tikus Wistar betina diukur pada hari ke-15 dengan metode ELISA di Laboratorium Integrated Biomedical Laboratories FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pengukuran diambil pada spesimen jaringan untuk menilai kandungan HA sebagai komponen penting hidrasi dan elastisitas kulit.

Satuan: ng/mL (nanogram/mL)

Skala: Rasio

4.2.2.4 Tikus Wistar betina model *Xerosis cutis* Derajat II

Penentuan komposisi sediaan untuk induksi *Xerosis cutis* derajat II berdasarkan hasil studi pendahuluan yang menunjukkan bahwa induksi kombinasi aseton 70% dan etanol 100% (perbandingan 1:1) merupakan komposisi paling sesuai/tepat dalam menciptakan kondisi kulit kering derajat sedang pada tikus.³⁹ Evaluasi tingkat kekeringan kulit dilakukan menggunakan parameter *Overall Dry Skin* (ODS) score, yang menilai tingkat keparahan gejala seperti kekasaran, deskuamasi (bersisik), dan adanya fisura atau retakan pada permukaan kulit. Penilaian dilakukan secara visual terhadap masing-masing

kelompok perlakuan dengan bantuan perangkat *skin analyzer* (WSDCAM *Mikroskop Digital WS1600 Endoscope Magnifier* 1600x, *Black*). Klasifikasi xerosis cutis menurut ODS derajat I (ringan) permukaan kulit tampak kering dengan sedikit kekasaran dan deskuamasi halus tanpa retakan, derajat II (sedang) kulit kasar, bersisik jelas, dan terdapat retakan halus atau fissura superfisial, derajat III (berat) deskuamasi luas, retakan lebih dalam disertai erosi superfisial dan tanda-tanda iritasi, serta derajat IV (sangat berat) kehilangan kontinuitas kulit dengan fisura dalam, ulserasi atau luka terbuka, disertai inflamasi berat. Pemilihan derajat II pada model ini didasari oleh frekuensi temuan klinis pada praktik serta posisinya sebagai titik kritis sebelum berkembang ke derajat berat yang melibatkan inflamasi intens dan risiko komplikasi luka.

Satuan : 0-4

Skala : Ordinal

4.3 Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus Wistar betina (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 200–250 gram dan berusia 3-4 bulan. Tikus betina dipilih untuk menjaga homogenitas karena perbedaan hormonal antara betina dan jantan dapat memengaruhi hasil penelitian. Tikus-tikus yang digunakan merupakan hewan sehat tanpa kelainan kulit dan diperoleh dari laboratorium hewan percobaan milik *Integrated Biomedical Laboratories* FK Universitas

Islam Sultan Agung Semarang (UNISULLA). Tikus-tikus tersebut dipelihara dengan pakan berupa pelet standar dan air putih, serta dijaga pada suhu lingkungan antara 20°C hingga 26°C. Pemeliharaan dilakukan dengan memastikan ventilasi dan pencahayaan yang memadai. Sebelum memulai perlakuan, tikus diberikan waktu adaptasi selama 7 hari.

4.3.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus Wistar betina (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 200–250 gram dan berusia 3-4 bulan.
2. Tikus yang telah menjalani proses adaptasi di laboratorium selama 7 hari dengan kondisi lingkungan terkontrol.
3. Tikus dengan xerosis cutis derajat II pada kulit punggungnya
4. Tikus yang telah menjalani proses adaptasi di laboratorium selama 7 hari dengan kondisi lingkungan terkontrol.

4.3.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus Wistar betina yang mengalami infeksi kulit selama proses adaptasi.
2. Tikus Wistar betina dengan kondisi kesehatan buruk, misalnya berat badan tidak stabil selama masa adaptasi.
3. Tikus Wistar betina yang menunjukkan tanda stres berat, seperti perubahan perilaku yang ekstrem atau tanda fisik akibat *grooming* berlebihan.

4.3.3 Kriteria Dropout

1. Tikus Wistar betina yang mati selama berjalannya penelitian.
2. Tikus Wistar betina yang mengalami infeksi kulit saat jalannya penelitian.
3. Tikus Wistar betina yang menunjukkan tanda-tanda sakit selama jalannya penelitian.

4.3.4 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan metode *simple random sampling* dalam pengambilan sampel. Sebanyak 30 ekor tikus jantan galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok, masing-masing terdiri atas 6 ekor tikus. Kelompok tersebut terdiri dari 3 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Metode ini memastikan bahwa setiap individu dalam populasi memiliki peluang yang sama untuk terpilih, sehingga meminimalkan kemungkinan bias dan meningkatkan validitas hasil penelitian.

4.3.5 Besar Sampel

Besar sampel penelitian akan dihitung menggunakan rumus Federer untuk sampel penelitian eksperimental. Adapun rumus dan hitungannya sebagai berikut:

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n = 5$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel yang dihitung dalam penelitian

t = jumlah kelompok perlakuan

Hasil yang didapatkan, yaitu 25 di mana nilai tersebut memenuhi rumus Federer (≥ 15), maka total tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor dengan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus Wistar betina.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

1. Mikropipet (10–1000 μL).
2. *Centrifuge*.
3. Spektrofotometer.
4. Inkubator CO_2 .
5. Mikroskop cahaya.
6. ELISA reader untuk analisis AQP3 dan HA.
7. Kandang hewan laboratorium.
8. Hot plate stirrer.
9. Gelas ukur.
10. Spatula *stainless*.
11. *Beaker glass*.
12. Timbangan digital.
13. Mortar pestle

14. *Homogenizer*.
15. *Skin Analyzer*®BW Boxy Skin.
16. *Cryotube* untuk penyimpanan sampel jaringan.
17. *Laminar air flow cabinet* untuk proses steril.
18. *Freezer* dengan suhu -20°C atau -80°C untuk penyimpanan sampel.
19. Perangkat *skin analyzer* (WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 *Endoscope Magnifier* 1600x, Black).

4.4.2 Bahan

1. 25 Tikus Wistar betina dengan berat badan 200–250 gram.
2. Aseton 70% dan etanol 100% untuk induksi *xerosis cutis*.
3. Krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan konsentrasi 3% dan 5% diperoleh dari Mensa Group.
4. Larutan buffer untuk preparasi ELISA (PBS atau buffer lain yang sesuai dengan protokol kit ELISA).
5. Basis krim: Aqua, Cetyl Alcohol, Stearyl Alcohol, Butylene Glycol, Glyceryl Stearate, Cetearyl Alcohol, Paraffinum Liquidum, Niacinamide, Sodium Lauryl Sulfate, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Tocopheryl Acetate, Bisabolol, Phenoxyethanol, Ceteareth-20, Sodium Cetearyl Sulfate, BHT, Sodium Sulfite, Citric Acid, Disodium Edta, Allantoin, Hydrolyzed Jojoba Esters, Ethylhexylglycerin, Sodium Metabisulfite yang diperoleh dari *Raw Material Cosmetical Grade* PT. Derma Elok Farma.⁴⁰

6. Antibodi primer dan sekunder spesifik untuk AQP3 dan HA (diperoleh dari kit ELISA).
7. Larutan TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) untuk reaksi substrat ELISA.
8. Aquadest steril untuk proses larutan dan mencuci plate ELISA.
9. Larutan *blocking* untuk mengurangi nonspesifik binding pada plate ELISA.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Perolehan Ethical Clearance

Penelitian ini melibatkan penggunaan hewan coba sehingga dilakukan dengan standar etika yang ketat. Sebelum penelitian dimulai, protokol penelitian telah disetujui oleh komite etik hewan. Penanganan tikus dilakukan dengan menjaga hak dan kesejahteraan hewan, serta tindakan analisis jaringan dilakukan setelah prosedur anestesi agar tikus tidak merasakan sakit. Permohonan persetujuan etik untuk penelitian dikeluarkan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang memenuhi kriteria inklusi dipilih menggunakan metode *simple random sampling* dengan total 30 ekor tikus Wistar betina yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Setiap kelompok terdiri atas 5+1 ekor tikus Wistar betina mencakup 3 kelompok kontrol dan 2

kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan dimulai, tikus-tikus tersebut menjalani proses adaptasi selama tujuh hari.

Sebanyak 30 ekor tikus Wistar betina diaklimatisasi di *Integrated Biomedical Laboratories* FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang. untuk memastikan kondisi stabil sebelum dilakukan penelitian. Tikus-tikus ini dipelihara dengan pakan standar dan diberi air putih dengan jumlah yang sama setiap hari untuk menjaga kebutuhan cairannya tetap terpenuhi.

4.5.3 Analisis Kadar Flavonoid dan Vitamin C

1. Flavonoid

Ekstrak mentimun dari Mensa Group ditimbang sebanyak 1000–2000 mg kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan cairan dari ampasnya. Sebanyak 0,5 mL filtrat dicampur dengan larutan aluminium klorida (AlCl_3) dan kalium asetat (KCH_3COO) untuk membentuk kompleks flavonoid yang dapat terdeteksi. Sampel kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm dan konsentrasi flavonoid total dihitung berdasarkan kurva standar quersetin dengan satuan mgQE/mL .⁴¹

2. Vitamin C

Ekstrak mentimun dari Mensa Group ditimbang sebanyak 1000–2000 mg kemudian diekstrak dan disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan cairan dari ampasnya. Filtrat yang diperoleh dicampur dengan larutan iod dan kanji sebagai indikator, kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis atau metode titrasi. Kandungan

vitamin C dihitung berdasarkan kurva standar asam askorbat dengan satuan mg/100 g bahan.⁴¹

4.5.4 Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Mentimun (*Cucumis sativus*)

Aqua, Cetyl Alcohol, Stearyl Alcohol, Butylene Glycol, Glyceryl Stearate, Cetearyl Alcohol, Paraffinum Liquidum, Niacinamide, Sodium Lauryl Sulfate, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Tocopheryl Acetate, Bisabolol, Phenoxyethanol, Cetareth-20, Sodium Cetearyl Sulfate, BHT, Sodium Sulfite, Citric Acid, Disodium Edta, Allantoin, Hydrolyzed Jojoba Esters, Ethylhexylglycerin, Sodium Metabisulfite yang diperoleh dari *Raw Material Cosmética Grade* PT. Derma Elok Farma sebagai basis krim.⁴⁰ Kemudian ditambahkan ekstrak mentimun dengan presentase 3% dan 5% diperoleh dari Mensa Group.^{35,36,42}

Tabel 4.1 Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Mentimun.

Bahan	F1	F2
Ekstrak Mentimun	3% ³⁶	5% ³⁵
Basis Krim (Aqua, Cetyl Alcohol, Stearyl Alcohol, Butylene Glycol, Glyceryl Stearate, Cetearyl Alcohol, Paraffinum Liquidum, Niacinamide, Sodium Lauryl Sulfate, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Tocopheryl Acetate, Bisabolol, Phenoxyethanol, Cetareth-20, Sodium Cetearyl Sulfate, BHT, Sodium Sulfite, Citric Acid, Disodium Edta, Allantoin, Hydrolyzed Jojoba Esters, Ethylhexylglycerin, Sodium Metabisulfite)	Add 100%	Add 100%

Alasan pemilihan dosis ekstrak mentimun dengan presentase 3% dan 5% dipilih berdasarkan pertimbangan efektivitas dan keamanan. Konsentrasi ini dianggap optimal untuk memberikan manfaat yang diinginkan, seperti efek pelembab tanpa menimbulkan iritasi atau efek samping lainnya. Selain itu, pemilihan dosis tersebut juga mempertimbangkan stabilitas formulasi dan karakteristik fisik produk akhir.^{35,36,43}

4.5.5 Cara Pembuatan Krim Ekstrak Mentimun (*Cucumis sativus*)

Proses formulasi dimulai dengan mencampurkan seluruh bahan dalam satu campuran, yang terdiri dari Aqua, Cetyl Alcohol, Stearyl Alcohol, Butylene Glycol, Glyceryl Stearate, Cetearyl Alcohol, Paraffinum Liquidum, Niacinamide, Sodium Lauryl Sulfate, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Tocopheryl Acetate, Bisabolol, Phenoxyethanol, Ceteareth-20, Sodium Cetearyl Sulfate, BHT, Sodium Sulfite, Citric Acid, Disodium EDTA, Allantoin, Hydrolyzed Jojoba Esters, Ethylhexylglycerin, dan Sodium Metabisulfite. Seluruh campuran ini dipanaskan pada suhu 70°C dengan menggunakan pemanas hingga semua bahan tercampur homogen. Proses pemanasan ini membantu untuk memastikan bahan-bahan yang larut dengan sempurna dan emulsi yang stabil terbentuk.^{35,40}

Pada tahap akhir, ekstrak mentimun dengan konsentrasi 3% atau 5% ditambahkan ke dalam emulsi pada suhu di bawah 40°C untuk mempertahankan stabilitas bahan aktif, kemudian diaduk hingga homogen. Formula krim akhir diuji secara fisik untuk memastikan

parameter seperti homogenitas, viskositas, pH (5,5–7,0), daya sebar, daya lekat, dan stabilitas. Dengan komposisi yang telah disesuaikan ini, krim ekstrak mentimun diharapkan memberikan manfaat hidrasi optimal untuk kulit *xerosis cutis*, meningkatkan kadar Aquaporin-3 (AQP3), serta mendukung kadar *Hyaluronic Acid*.^{35,36,42}

4.5.6 Induksi *Xerosis cutis* Derajat II

1. Persiapan Hewan Uji
 - a. Pilih tikus Wistar betina dengan berat antara 200–250 gram.
 - b. Biarkan tikus beradaptasi selama 7 hari dalam kondisi laboratorium terkendali dengan suhu 20–26°C dan kelembapan 50–60%.
 - c. Cukur bagian kulit 3x3 cm² di punggung tikus menggunakan alat cukur elektrik, pastikan tidak melukai kulit.
2. Induksi tikus wistar betina model *Xerosis cutis* derajat II
 - a. Rendam kapas steril dalam larutan aseton 70% dan etanol 100% (1:1).³⁹
 - b. Oleskan kapas yang telah dibasahi aseton 70% dan etanol 100% (1:1) ke kulit punggung tikus yang sudah dicukur 3x3 cm² sebanyak 3 kali pengusapan hingga terlihat mengering.
 - c. Lakukan aplikasi ini dua kali sehari, pagi dan sore, selama 7 hari berturut-turut.
 - d. Lanjutkan perlakuan hingga tikus mencapai skor 2 menunjukkan kondisi *xerosis cutis* sedang.¹⁹

3. Observasi Perubahan Kulit

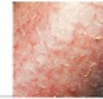
- a. Amati perubahan pada kulit tikus setiap hari untuk menilai tingkat *xerosis cutis* berdasarkan skala berikut:

Tabel 4.2 Analisis Derajat *Xerosis cutis*.^{7,21}

Skor ODS	Keterangan
0	Kulit normal, tidak ada tanda kekeringan.
1	Menunjukkan kulit kering ringan dengan tanda sedikit sisik, kulit agak kasar, dan tampak kusam.
2	Menunjukkan kulit kering sedang dengan tanda Timbul sisik kecil dan beberapa sisik besar, tekstur sedikit kasar, dan kulit tampak putih pucat.
3	Menunjukkan kulit kering berat dengan tanda sisik kecil dan besar tersebar merata, kulit terasa jelas kasar, mungkin ada kemerahan ringan, dan beberapa retakan superfisial.
4	Menunjukkan <i>xerosis cutis</i> sangat parah, ditandai dengan kulit sangat kasar, adanya peradangan, sisik besar, dan pecah-pecah.

Keterangan:

- Skor 0: Kulit normal, tidak ada tanda kekeringan.
- Skor 1: Menunjukkan kulit kering ringan.
- Skor 2: Menunjukkan kulit kering sedang.
- Skor 3: Menunjukkan kulit kering berat.
- Skor 4: Menunjukkan *xerosis cutis* sangat parah, ditandai dengan kulit sangat kasar, adanya peradangan, sisik besar, dan pecah-pecah.^{7,21}

Objective signs (physician's assessment)					
	0 (none)	1 (mild)	2 (moderate)	3 (severe)	4 (very severe)
Scaling					
Fissures/ rhagades					
Erythema					

Gambar 4.2 Skor *Xerosis cutis* Berdasarkan Visual.¹

Pada *xerosis cutis* derajat II ditandai dengan adanya *scaling* berupa sisik kecil dan beberapa sisik besar pada permukaan kulit. Kulit tampak sedikit kasar dengan tekstur yang tidak rata, serta warna kulit terlihat lebih putih pucat dibandingkan kulit normal. Selain itu, *fissures/rhagades* belum menunjukkan retakan yang dalam, tetapi retakan superfisial atau halus dapat terlihat di beberapa area sebagai akibat dari kekeringan yang sedang. Pada kondisi *erythema* tidak ditemukan atau sangat minimal, sehingga tidak ada tanda kemerahan atau peradangan yang signifikan. Secara keseluruhan, kondisi ini merepresentasikan tingkat kekeringan kulit sedang dengan kerusakan struktural ringan yang dapat berpotensi memburuk jika tidak ditangani.¹

4. Analisis Kondisi Kulit Secara Klinis Menggunakan *Skin Analyzer*

Sebagai alat bantu untuk mendukung observasi klinis berdasarkan ODS, dilakukan juga analisis kondisi kulit secara klinis menggunakan *skin analyzer* merk WSDCAM *Mikroskop Digital* WS1600 *Endoscope Magnifier* 1600x, *Black*. Analisis dilakukan pada tiga titik waktu::

a. Setelah adaptasi di laboratorium

Dilakukan untuk memastikan kondisi kulit dalam keadaan *baseline* dan untuk mengurangi efek lingkungan yang mungkin memengaruhi hasil pengukuran. Pengukuran ini bertujuan untuk mendapatkan data awal mengenai kadar hidrasi kulit sebelum terjadi intervensi, sehingga perbandingan dapat dibuat dengan kondisi kulit setelah induksi dan pemberian krim.

b. Setelah induksi *xerosis cutis* derajat II

Dilakukan untuk memastikan telah terjadi penurunan kadar hidrasi oleh aseton 70% dan etanol 100%.

c. Setelah pemberian krim

Dilakukan setelah periode perlakuan selama 14 hari untuk menilai perubahan kadar kelembapan kulit akibat aplikasi krim.⁴⁴

Pengambilan gambar permukaan kulit dilakukan menggunakan *skin analyzer* yang telah dikalibrasi terlebih dahulu guna memastikan fokus dan pencahayaan berada dalam kondisi optimal. Pengamatan dilakukan pada area dorsum punggung tikus Wistar betina yang telah dicukur, dengan pemotretan dilakukan antara lensa dan permukaan

kulit serta tingkat pembesaran dijaga konstan agar hasil yang diperoleh bersifat komparatif antar sampel. Seluruh citra mikroskopis disimpan dalam format resolusi tinggi (JPEG/PNG) dan diberi kode sesuai identitas kelompok perlakuan. Gambar representatif dari masing-masing kelompok kemudian digunakan dalam dokumentasi hasil penelitian untuk menggambarkan secara visual perubahan morfologis kulit, baik yang menunjukkan perbaikan maupun kerusakan, sebagai data pendukung terhadap interpretasi kondisi klinis berdasarkan skor ODS.⁴⁴

4.5.7 Pemakaian Krim dan Pengambilan Sampel Jaringan

Krim diaplikasikan setelah *xerosis cutis* derajat II berhasil diinduksi, yaitu pada hari ke-7. Setelah perlakuan aplikasi krim ekstrak mentimun selesai, sampel jaringan tambahan diambil dari area kulit yang diolesi krim. Sampel ini digunakan untuk menganalisis pengaruh aplikasi krim terhadap kadar Aquaporin-3 (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA) dalam perbaikan kondisi kulit *xerosis cutis* derajat II. Krim dioleskan dua kali sehari pada waktu yang sama (pagi dan sore) selama 14 hari dengan berat 200 mg.^{43,45}

4.5.8 Pemeriksaan Aquaporin-3 (AQP3)

Pemeriksaan kadar Aquaporin-3 (AQP3) dilakukan menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Metode ini bertujuan untuk mendeteksi kadar protein AQP3 dalam jaringan kulit hari ke 15 yang telah diinduksi *xerosis cutis*. Proses dimulai dengan

pengambilan sampel kulit dari tikus percobaan yang telah diperlakukan sesuai dengan rancangan penelitian.^{30,46} Adapun langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Homogenisasi Jaringan Kulit

Sampel diambil dari spesimen jaringan kulit kemudian dihomogenisasi menggunakan *homogenizer* dalam buffer lisis yang mengandung PBS (*Phosphate Buffered Saline*) sebagai protease inhibitor untuk menjaga stabilitas protein.

2. Sentrifugasi

Homogenat disentrifugasi pada $10.000 \times g$ selama 15–20 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan supernatan yang mengandung protein larut. Supernatan ini digunakan untuk analisis ELISA.

3. Pelapisan Plate ELISA

Plate ELISA dilapisi dengan antibodi primer spesifik untuk AQP3 dan diinkubasi sesuai protokol kit.

4. Penambahan Sampel

Supernatan hasil ekstraksi jaringan kulit ditambahkan ke plate bersama larutan standar AQP3 untuk pembuatan kurva standar.

5. Inkubasi

Plate ELISA diinkubasi pada suhu tertentu (biasanya suhu kamar atau 37°C) sesuai protokol untuk memungkinkan interaksi optimal antara antibodi dan protein target.

6. Reaksi Substrat

Substrat enzim (misalnya TMB) ditambahkan ke dalam plate untuk memulai reaksi warna. Intensitas warna yang dihasilkan mencerminkan konsentrasi AQP3 dalam sampel.

7. Pembacaan Absorbansi

Warna yang terbentuk diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm. Nilai absorbansi mencerminkan jumlah protein AQP3 yang terdeteksi dalam sampel.

8. Analisis Data

Nilai absorbansi dibandingkan dengan kurva standar untuk menghitung konsentrasi AQP3. Hasil konsentrasi AQP3 dianalisis untuk mengevaluasi efek induksi *xerosis cutis* derajat II.^{30,46}

4.5.9 Pemeriksaan *Hyaluronic Acid* (HA)

Pemeriksaan kadar *Hyaluronic Acid* (HA) dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Metode ini merupakan teknik imunologi berbasis reaksi antigen antibodi yang spesifik untuk mendeteksi konsentrasi HA dalam sampel biologis seperti jaringan, serum, atau plasma. Dalam penelitian ini, kit ELISA khusus untuk HA digunakan, sesuai dengan spesifikasi yang telah divalidasi oleh produsen untuk berbagai spesies, termasuk tikus. Teknik ini memberikan

sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi kadar HA mulai dari 15 hingga 1.000 ng/mL.⁴⁷ Adapun langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Homogenisasi Jaringan Kulit

Sampel diambil dari bubur jaringan kulit kemudian dihomogenisasi menggunakan homogenizer dalam buffer lisis yang mengandung PBS (Phosphate Buffered Saline) sebagai protease inhibitor untuk menjaga stabilitas protein.

2. Proses Preparasi Jaringan

Bubur jaringan kulit ditimbang untuk menentukan jumlah bahan yang akan diproses. Sampel kulit diliofilisasi (*freeze-dried*) untuk menghilangkan kandungan air sepenuhnya. Bubur jaringan kulit yang telah kering dihancurkan menjadi bubuk halus menggunakan mortar dan pestle.

3. Enzimatisasi Jaringan

Bubur jaringan kulit dilarutkan dalam larutan buffer lisis yang mengandung enzim protease (Pronase E atau enzim serupa). Konsentrasi Larutan Protease: Enzim protease dicampur dalam buffer pada konsentrasi tertentu, misalnya 3 mg/mL untuk mencerna protein yang tidak diperlukan. Proses pencernaan dilakukan dengan menginkubasi campuran ini pada suhu 55°C selama 24 jam untuk memastikan protein terdegradasi, sementara *Hyaluronic Acid* (HA) dilepaskan dari matriks jaringan.

4. Sentrifugasi dan Klarifikasi

Setelah pencernaan selesai, larutan hasil digesti disentrifugasi pada kecepatan tinggi (misalnya, $10.000 \times g$ selama 10–15 menit) pada suhu 4°C . Supernatan yang mengandung *Hyaluronic Acid* (HA) dikumpulkan dengan hati-hati untuk dianalisis menggunakan ELISA.

5. Pemeriksaan ELISA

- a. Persiapan Plate ELISA: Gunakan kit ELISA khusus untuk *Hyaluronic Acid* (misalnya, Hyaluronan DuoSet Kit dari R&D Systems). Plate ELISA dilapisi dengan antibodi spesifik untuk HA.
- b. Penambahan Sampel: Supernatan dari jaringan kulit ditambahkan ke plate bersama larutan standar HA untuk membuat kurva standar.
- c. Inkubasi: Plate diinkubasi pada suhu tertentu sesuai protokol kit (biasanya suhu kamar atau 37°C).
- d. Reaksi Substrat: Substrat enzim (seperti TMB) ditambahkan untuk memicu reaksi warna yang mencerminkan konsentrasi HA dalam sampel.

6. Pembacaan Absorbansi

Intensitas warna di setiap sumur pada plate ELISA diukur menggunakan spektrofotometer mikroplate pada panjang gelombang 450 nm. Konsentrasi HA dihitung dengan membandingkan nilai absorbansi sampel terhadap kurva standar yang dibuat dari larutan standar HA.

7. Analisis Data

Data absorbansi dibandingkan dengan kurva standar untuk menentukan konsentrasi HA dalam jaringan kulit. Hasil dianalisis secara statistik untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok perlakuan, termasuk efek induksi *xerosis cutis* derajat II dan pengaruh perlakuan krim ekstrak mentimun dengan presentase 3% dan 5%.^{47,48}

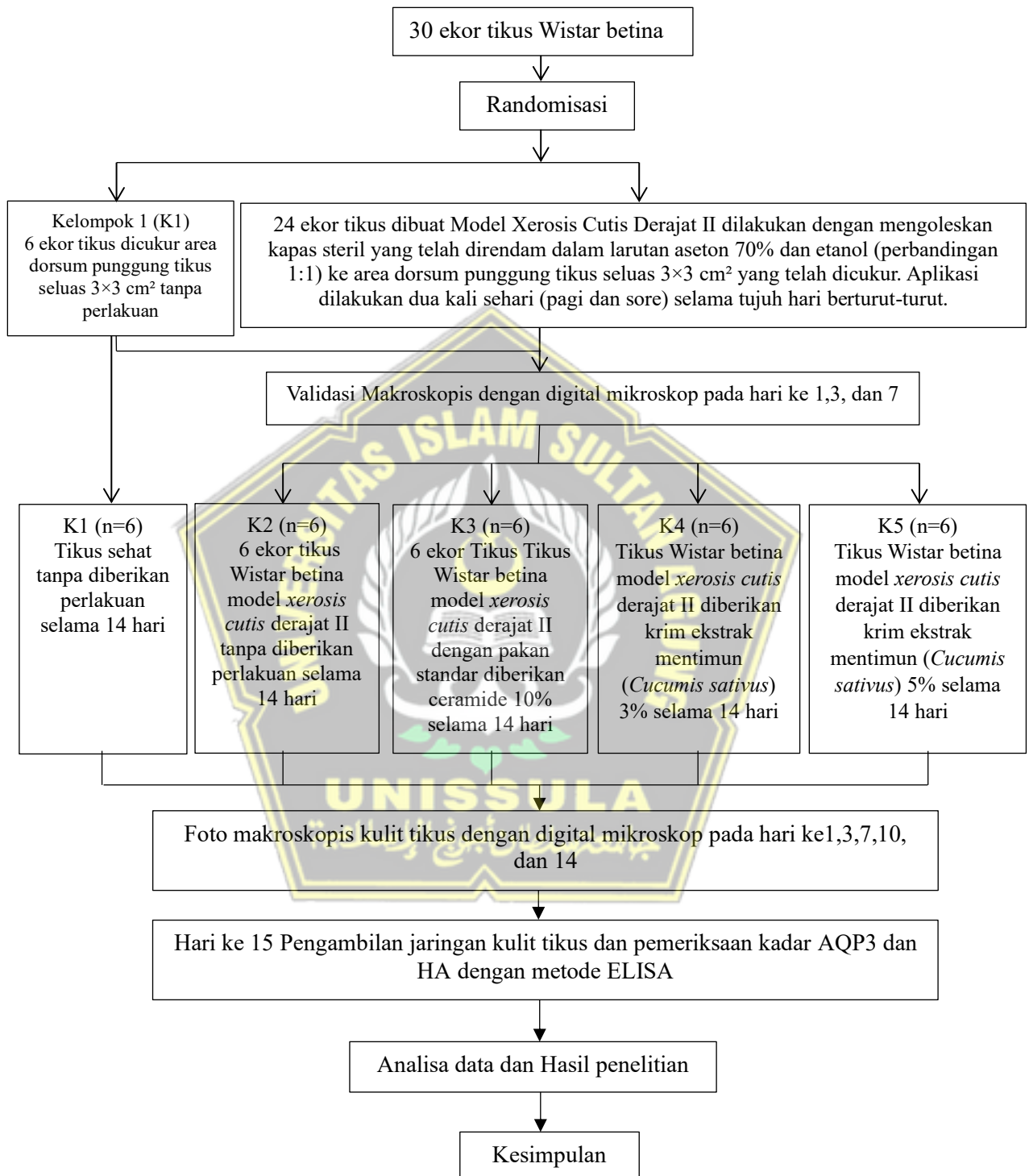
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di *Integrated Biomedical Laboratories* FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang (UNISULLA), pada bulan Mei-Juli 2025.

4.7 Analisis Data

Hasil penelitian rerata kadar Aquaporin-3 (AQP3) dan kadar *Hyaluronic Acid* (HA) yang dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil tidak berdistribusi normal ($p < 0,005$) dan uji homogenitas data dengan *Leuvene Test* didapatkan hasil yang homogen ($p > 0,005$), hasil yang tidak homogen dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menentukan perbedaan antar semua kelompok perlakuan dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk menganalisis perbedaan antar pasangan kelompok perlakuan terhadap rerata kadar AQP3 dan HA.^{37,49}

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.3 Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang diperoleh dari aplikasi krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar *Aquaporin-3* (AQP3) dan *Hyaluronic Acid* (HA) pada tikus betina galur Wistar yang telah diinduksi kondisi xerosis cutis derajat II. Penelitian dengan rancangan eksperimental *post-test only control group design* yang terdiri atas lima kelompok perlakuan, yakni kelompok kontrol sehat (K1), kelompok kontrol negatif dengan xerosis tanpa perlakuan (K2), kelompok kontrol positif dengan pemberian krim *ceramide* 10% (K3), serta dua kelompok perlakuan yang masing-masing dioleskan krim ekstrak mentimun konsentrasi 3% (K4) dan 5% (K5).

Pengumpulan data dilakukan pada hari ke-15 pasca induksi dan aplikasi krim, dengan parameter utama berupa kadar AQP3 dan HA jaringan kulit yang diukur secara kuantitatif menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Selain itu, untuk menilai manifestasi klinis xerosis cutis, digunakan penilaian visual berdasarkan *Overall Dry Skin Score (ODS)* yang mencerminkan tingkat keparahan kulit kering secara makroskopis menggunakan *skin analyzer* merk WSDCAM *Mikroskop Digital WS1600 Endoscope Magnifier 1600x, Black*.

5.1.1. Hasil Analisis Kandungan Flavonoid dan Asam Askorbat Ekstrak Mentimun (*Cucumis sativus*).

Penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak mentimun dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan kuersetin sebagai standar baku. Berdasarkan kurva kalibrasi quercetin (dengan persamaan regresi linear $y = 0,016x + 0,0001$ dan koefisien determinasi $R^2 = 0,9988$), diperoleh nilai absorbansi ekstrak mentimun pada konsentrasi 10.000 ppm sebesar 0,331; 0,346; dan 0,326. Nilai rata-rata absorbansi dari ketiga replikasi tersebut adalah 0,334. Dari hasil ini, dihitung bahwa kandungan flavonoid total dalam ekstrak mentimun mencapai 20,9 mg/L, yang ekuivalen dengan 0,0021 mg quercetin equivalent (QE)/g ekstrak.

Tabel 5.1 Hasil Analisis Kadar Flavonoid dan vitamin C pada Ekstrak Mentimun

Jenis Analisis	No	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kandungan (ppm/mg/L)	Keterangan Tambahan
Flavonoid	1	0,331	0,334	20,9 mg/L	0,0021 mg QE/g
	2	0,346			
	3	0,326			
Vitamin C	1	0,795	0,765	9,588 ppm	Pengenceran 1000x; 95,88% dalam sampel
	2	0,702			
	3	0,797			

Laboratorium kimia FK Unissula
Semarang 16 Juli 2025

Analisis kandungan vitamin C pada ekstrak mentimun dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan kurva standar asam askorbat. Kurva standar menunjukkan hubungan linier dengan persamaan regresi $y = 0,085x - 0,0503$ dan koefisien determinasi $R^2 = 0,9974$, yang mengindikasikan tingkat akurasi dan presisi yang tinggi. Pengukuran absorbansi

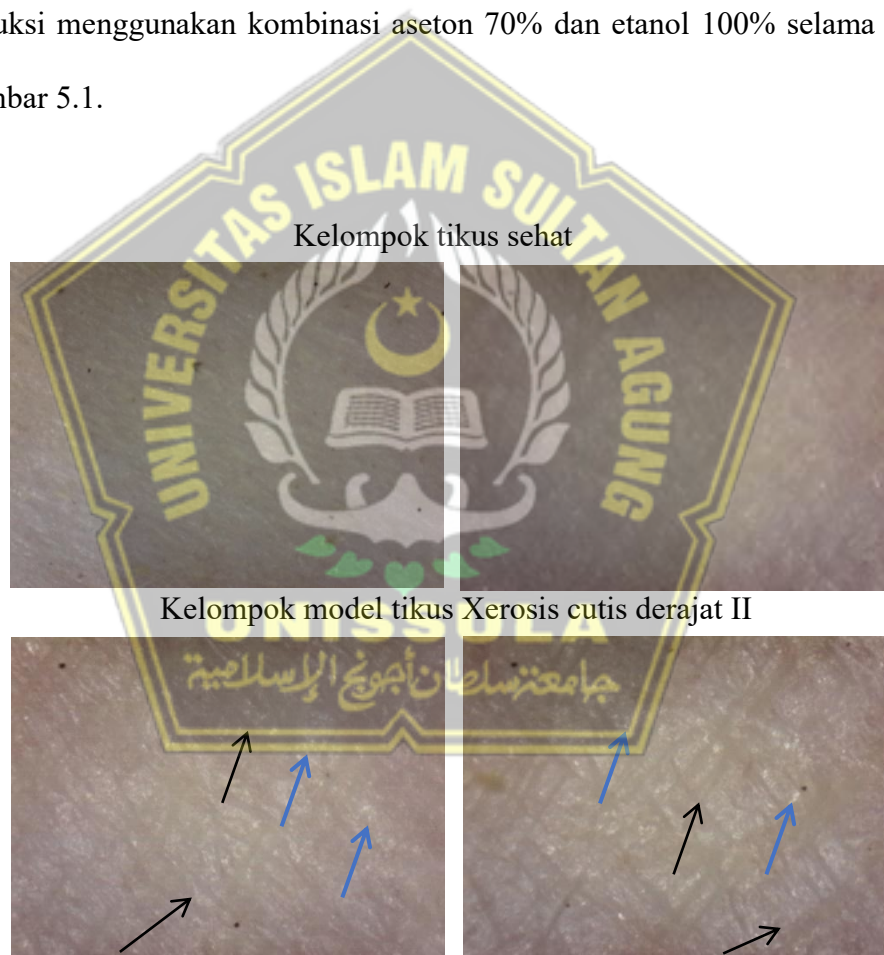
terhadap ekstrak mentimun yang telah diencerkan 1000 kali (sampel 10.000 ppm) menghasilkan nilai masing-masing 0,702 dan 0,797, dengan rata-rata 0,765. Berdasarkan persamaan regresi, kandungan vitamin C pada sampel yang telah diencerkan diperoleh sebesar 9,588 ppm. Setelah dikonversi ke konsentrasi asli (tanpa pengenceran), kadar vitamin C dalam ekstrak mentimun mencapai 95,88%, yang tergolong sangat tinggi dan menunjukkan potensi kuat sebagai sumber antioksidan alami.

Pengujian kandungan flavonoid total menunjukkan nilai sebesar 20,9 mg/L atau ekuivalen 0,0021 mg quercetin equivalent (QE)/g ekstrak. Jika dibandingkan dengan kisaran umum kandungan flavonoid pada bahan nabati lain yang dapat mencapai puluhan hingga ratusan mg QE/g, nilai ini tergolong rendah. Meskipun demikian, flavonoid tetap berkontribusi dalam menangkal radikal bebas dan mengurangi risiko kerusakan sel akibat stres oksidatif.

Profil komposisi bioaktif ini mengindikasikan bahwa potensi antioksidan ekstrak mentimun terutama didominasi oleh kandungan vitamin C yang sangat tinggi, yang berperan penting dalam proteksi oksidatif, stimulasi sintesis kolagen, percepatan regenerasi jaringan kulit, serta perlindungan terhadap penuaan dini. Kombinasi antara vitamin C dan flavonoid, meskipun kadarnya tidak seimbang, tetap memberikan efek sinergis dalam mendukung kesehatan kulit. Ekstrak mentimun memiliki prospek aplikatif yang menjanjikan sebagai bahan aktif dalam formulasi produk dermatologis maupun farmasi, khususnya di bidang perawatan kulit.

5.1.2. Hasil Validasi Model Tikus Xerosis Cutis Derajat II yang dioleskan secara topikal kombinasi aseton 70% dan etanol 100% selama 7 hari.

Validasi model hewan xerosis cutis derajat II dilakukan dengan observasi langsung menggunakan *skin analyzer* (WSDCAM *Mikroskop Digital WS1600 Endoscope Magnifier 1600x, Black*) untuk membandingkan kondisi kulit kelompok tikus sehat dengan kelompok model xerosis cutis derajat II setelah induksi menggunakan kombinasi aseton 70% dan etanol 100% selama 7 hari, gambar 5.1.



Gambar 5.1 Perbandingan makroskopis jaringan kulit tikus sehat (atas) dengan Model tikus *Xerosis cutis* derajat II (bawah).

Tampilan kulit punggung secara mikroskopik menunjukkan permukaan yang relatif halus, homogen, serta warna kulit yang seragam. Tidak tampak

adanya sisik, retakan, atau perubahan warna yang menandakan gangguan hidrasi atau kerusakan struktural pada stratum korneum. Tekstur kulit tampak rata dengan integritas barrier yang masih utuh. Sedangkan pada kelompok tikus model xerosis cutis derajat II, hasil visualisasi dengan mikroskop digital menunjukkan adanya perubahan morfologi kulit yang jelas. Permukaan kulit tampak kasar dengan tekstur tidak merata, disertai scaling berupa sisik-sisik kecil hingga sedang (panah hitam). Beberapa area menunjukkan tampilan putih pucat dan retakan superfisial halus/fissures (panah biru), yang merupakan ciri khas dari xerosis cutis tingkat sedang. Tidak ditemukan tanda inflamasi berat seperti eritema atau lesi perdarahan, sehingga sesuai dengan karakteristik klinis derajat II.

Perbandingan visual antara kulit tikus sehat dan kulit yang telah diinduksi xerosis menunjukkan perbedaan yang konsisten secara morfologis, memperkuat keberhasilan induksi model *xerosis cutis* derajat II. Validasi ini menegaskan bahwa model tikus yang digunakan telah merepresentasikan kondisi *xerosis cutis* derajat II secara klinis dan struktural, sehingga layak digunakan untuk pengujian efektivitas krim topikal dalam penelitian ini.

5.1.3. Hasil pengamatan makroskopis jaringan kulit pada tiap kelompok dengan *skin analyzer* merk alat (WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 Endoscope Magnifier 1600x, Black) pada saat perlakuan.

Pengamatan makroskopis jaringan kulit tikus dilakukan pada hari ke-1, 3, 7, 10, dan 14 menggunakan mikroskop digital untuk mengevaluasi perubahan morfologi kulit. Hari pertama pengamatan makroskopis jaringan kulit kelompok

K1 tampak normal, halus, lembap, dan tanpa kelainan. Sementara kelompok K2 hingga K5, yang telah melalui proses induksi xerosis, menunjukkan permukaan kulit yang kasar, kering, dan tampak bersisik halus. Warna kulit tampak lebih pucat dibanding kelompok sehat. Belum tampak perbedaan yang mencolok antar kelompok perlakuan karena efek intervensi belum terlihat.

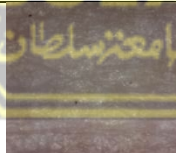
Pengamatan hari ke 3, kelompok K1 tetap menunjukkan tampilan kulit yang normal, pada kelompok K2, sisik halus tampak lebih jelas dibanding hari sebelumnya, dengan permukaan kulit yang semakin kering dan mulai terlihat retakan halus. Kelompok K3 menunjukkan penurunan sisik ringan. Pada kelompok K4, sisik masih merata dan kulit tampak kasar, sementara kelompok K5 mulai menunjukkan penurunan kekasaran dan tampak lebih lembap.

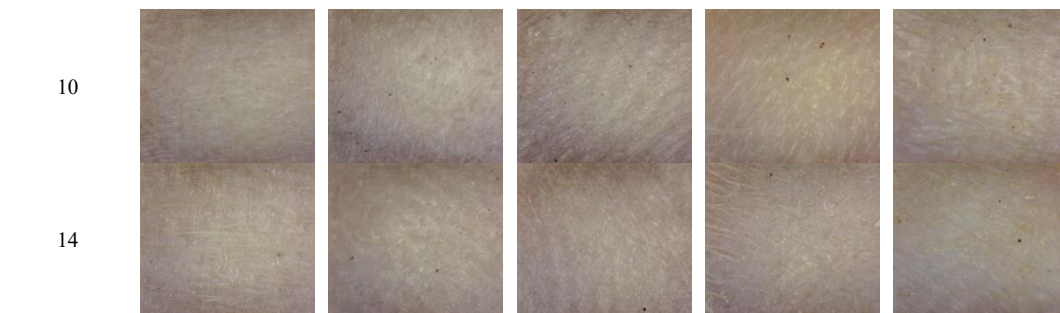
Pengamatan hari ke-7, kelompok K2 tampak sisik halus dan kasar yang menyatu, retakan superfisial mulai terlihat jelas, dan warna kulit masih pucat. Meskipun kondisi ini masih menunjukkan ciri xerosis, secara visual K2 tampak sedikit lebih lembap dan lebih sedikit retakan dibanding K4. Pada kelompok K4, sisik terlihat menyebar lebih luas dengan permukaan lebih kasar. Sementara itu, kelompok K3 menunjukkan perbaikan signifikan dengan penurunan sisik dan peningkatan kelembapan, dan K5 juga menunjukkan perbaikan yang nyata dengan kulit yang tampak lebih rata dan lebih cerah.

Pengamatan hari ke-10, Kelompok K1 tetap stabil tanpa perubahan. Pada kelompok K2, tampilan kulit masih menunjukkan kekeringan, namun retakan superfisial mulai berkurang. Sisik masih ada namun tampak mulai menipis.

Dibandingkan K4, kondisi K2 sedikit lebih membaik, dengan permukaan kulit yang tidak seburuk K4 yang masih menunjukkan sisik menyebar dan kekasaran merata. Kelompok K3 hampir menyerupai kulit sehat dengan kelembapan yang baik dan permukaan kulit yang lebih halus. Kelompok K5 juga menunjukkan perbaikan yang signifikan dengan permukaan yang mulai mendekati normal.

Pengamatan hari terakhir pada hari ke-14, kelompok K1 masih menunjukkan kulit normal. Kelompok K2 menunjukkan kondisi yang cenderung menetap dengan sisa sisik dan sedikit retakan, namun tetap tampak lebih baik dibanding kelompok K4. Kelompok K4 masih memperlihatkan permukaan kasar dengan sisik yang belum sepenuhnya hilang. Kelompok K3 memperlihatkan perbaikan optimal, menyerupai kulit normal. Sementara kelompok K5 menunjukkan perbaikan hampir setara dengan K3, dengan permukaan halus dan tanpa sisik yang tampak secara visual, gambar 5.2

Hari pengamatan	Kelompok I Tikus Sehat	Kelompok II Tanpa perlakuan	Kelompok III Ceramide 10%	Kelompok IV Krim ekstrak mentimun 3%	Kelompok V Krim ekstrak mentimun 5%
0/ Xerosis Cutis					
1					
3					
7					



Gambar 5.2 Pengamatan makroskopis jaringan kulit pada tiap kelompok dengan mikroskop digital pada hari ke 1, 3, 7, 10, dan 14.

5.1.4. Hasil analisis Kadar Aquaporin-3 (AQP3) jaringan kulit pada tiap kelompok dengan metode ELISA

Hasil pengukuran kadar AQP3 menunjukkan rerata tertinggi pada kelompok K3 (*ceramide* 10%) sebesar 2093,82 ng/L $\pm$ 421,01, diikuti kelompok K2 (*xerosis* tanpa perlakuan) sebesar 1753,16 ng/L $\pm$ 289,49, K5 (krim ekstrak mentimun 5%) sebesar 1725,04 ng/L $\pm$ 533,59, K1 (kontrol sehat) sebesar 1665,04 ng/L $\pm$ 388,15, dan terendah pada K4 (krim ekstrak mentimun 3%) sebesar 1448,69 ng/L $\pm$ 483,22, dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.2. Hasil analisis deskriptif rerata kadar AQP3 (ng/L), normalitas, homogenitas dan uji *Kruskal-Wallis*

Kelompok	K1 Tikus Sehat	K2 Tikus <i>Xerosis</i> Tanpa Perlakuan	K3 <i>Ceramide</i> 10%	K4 Krim Ekstrak Mentimun 3%	K5 Krim Ekstrak Mentimun 5%	<i>P value</i>
Kadar AQP3 (ng/L)						
Mean	1665.04	1753.16	2093.82	1448.69	1725.04	
SD	$\pm$ 388.15	$\pm$ 289.49	$\pm$ 421.01	$\pm$ 483.22	$\pm$ 533.59	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.025	0.340*	0.370*	0.370*	0.494*	
<i>Leuvene Test</i>						0,389*
<i>Kruskal-Wallis</i>						0,131

Keterangan: *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
Leuvene Test = Homogen ($p > 0,05$)
Kruskal-Wallis = Signifikan ($p < 0,05$)

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data pada kelompok K1 tidak berdistribusi normal ($p = 0,025$), sedangkan kelompok lain menunjukkan distribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas Levene menunjukkan hasil homogen ($p = 0,389$). Karena terdapat satu kelompok yang tidak normal, maka uji komparatif menggunakan *Kruskal-Wallis*. Hasilnya menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar semua kelompok ($p = 0,131$).



Gambar 5.3 Grafik rerata kadar AQP3 (ng/L) setiap kelompok perlakuan

Gambar grafik kadar AQP3 menunjukkan bahwa kelompok yang mendapatkan perlakuan ceramide 10% memiliki kadar AQP3 lebih tinggi (2093,82 ng/L $\pm$ 421,01) dibandingkan seluruh kelompok lainnya. Kelompok tanpa perlakuan (1753,16 ng/L $\pm$ 289,49) dan kelompok yang diberi krim mentimun 5% (1725,04 ng/L $\pm$ 533,59) menunjukkan kadar AQP3 yang lebih tinggi dibanding kelompok kontrol sehat (1665,04 ng/L $\pm$ 388,15). Sementara itu, kadar AQP3 terendah terlihat pada kelompok yang diberikan krim mentimun 3%

(1448,69 ng/L $\pm$ 483,22). Secara visual, grafik menggambarkan adanya perbedaan kadar AQP3 antar kelompok, namun analisis statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antar semua kelompok.

5.1.5. Hasil analisis Kadar *Hyaluronic Acid* (ng/L) jaringan kulit pada tiap kelompok

Rerata kadar *Hyaluronic Acid* (HA) tertinggi pada kelompok K1 (tikus sehat) sebesar 685,26 ng/L $\pm$ 194,95, diikuti K2 (xerosis tanpa perlakuan) sebesar 648,89 ng/L $\pm$ 59,83, K5 (krim ekstrak mentimun 5%) sebesar 611,25 ng/L $\pm$ 248,61, K4 (krim ekstrak mentimun 3%) sebesar 479,68 ng/L $\pm$ 161,73, dan terendah pada K3 (ceramide 10%) sebesar 381,97 ng/L $\pm$ 76,54. dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil analisis deskriptif rerata kadar HA (ng/L), normalitas, homogenitas dan uji *Kruskal-Wallis*

Kelompok	K1 Tikus Sehat	K2 Tikus <i>Xerosis</i> Tanpa Perlakuan	K3 <i>Ceramide</i> 10%	K4 Krim Ekstrak Mentimun 3%	K4 Krim Ekstrak Mentimun 5%	<i>P value</i>
Kadar <i>Hyaluronic Acid</i> (ng/L)						
Mean	685.26	648.89	381.97	479.68	611.25	
SD	$\pm$ 194.95	$\pm$ 59.83	$\pm$ 76.54	$\pm$ 161.73	$\pm$ 248.61	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.076*	0.227*	0.081*	0.705*	0.034	
<i>Leuvene Test</i>						0.208*
<i>Kruskal-Wallis</i>						0.016*

Keterangan: *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
Leuvene Test = Homogen ($p > 0,05$)
Kruskal-Wallis = Signifikan ($p < 0,05$)

Uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$), kecuali pada kelompok K5 yang menunjukkan distribusi tidak

normal ($p = 0,034$). Uji homogenitas varians dengan *Levene Test* menunjukkan hasil homogen ($p = 0,208$). Berdasarkan kondisi ini, uji beda antar semua kelompok dilakukan dengan uji non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*, yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok ($p = 0,016$).

Hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian perlakuan topikal, baik ceramide maupun krim ekstrak mentimun, memengaruhi kadar HA secara berbeda dibandingkan kelompok kontrol sehat maupun kelompok tanpa perlakuan, seperti pada tabel (tabel 5.4.)

Tabel 5.4. Uji *Mann-Whitney* antar kelompok terhadap kadar *Hyaluronic Acid*

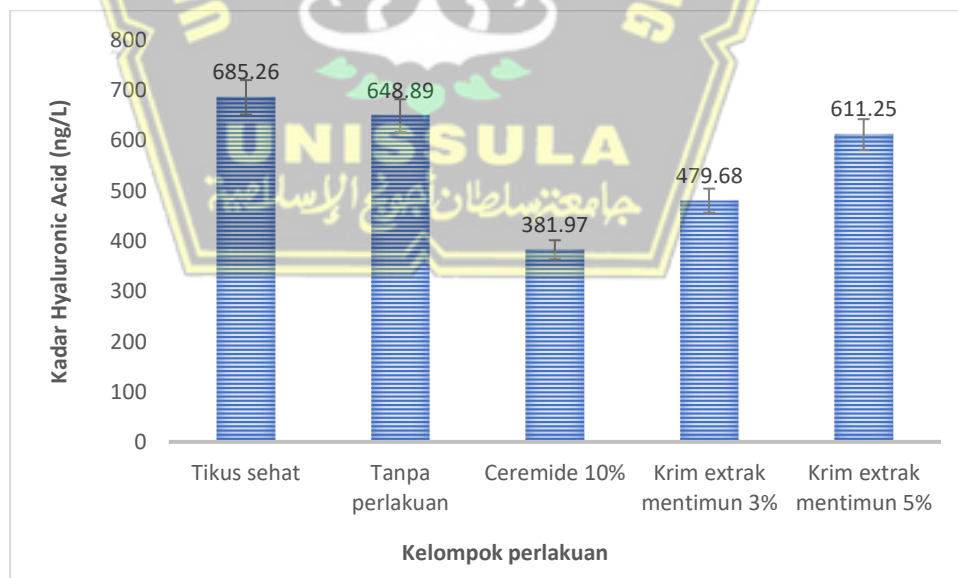
Kelompok	Kelompok Perbandingan	<i>p</i> (value)
Tikus sehat (K1)	Tanpa perlakuan (K2)	0.240
	Ceremide 10% (K3)	0.026*
	Krim ekstrak mentimun 3% (K4)	0.065
	Krim ekstrak mentimun 5% (K5)	0.394
	Ceremide 10% (K3)	0.002*
Tanpa perlakuan (K2)	Krim ekstrak mentimun 3% (K4)	0.041*
	Krim ekstrak mentimun 5% (K5)	0.310
	Krim ekstrak mentimun 3% (K4)	0.240
Ceremide 10% (K3)	Krim ekstrak mentimun 5% (K5)	0.065
	Krim ekstrak mentimun 5% (K5)	0.589

Keterangan: *Bermakna $p < 0,05$

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara beberapa pasangan kelompok terhadap kadar *Hyaluronic Acid* (HA). Kelompok tikus sehat (K1) memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok yang diberi ceramide 10% (K3) ($p = 0,026$), yang menunjukkan bahwa kadar HA pada kelompok ceramide lebih rendah dibandingkan kelompok sehat. Namun, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara kelompok sehat dengan kelompok tanpa perlakuan (K2), kelompok krim mentimun 3%

(K4), maupun kelompok krim mentimun 5% (K5), masing-masing dengan nilai $p = 0,240$; $0,065$; dan $0,394$.

Kelompok tanpa perlakuan (K2) juga menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok *ceramide* 10% (K3) ($p = 0,002$) dan kelompok krim mentimun 3% (K4) ($p = 0,041$), mengindikasikan bahwa kedua intervensi tersebut menyebabkan kadar HA lebih rendah secara nyata dibandingkan kelompok tanpa perlakuan. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara K2 dan kelompok krim mentimun 5% (K5) ($p = 0,310$). Perbandingan antara kelompok *ceramide* 10% (K3) dengan kelompok krim mentimun 3% (K4) dan 5% (K5) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,240$ dan $p = 0,065$). Begitu pula antara kelompok krim mentimun 3% dan 5% (K4 dibandingkan K5), yang menunjukkan $p = 0,589$.



Gambar 5.4 Grafik rata-rata kadar *Hyaluronic Acid* setiap kelompok perlakuan

Pemberian ceramide 10% ($381,97 \text{ ng/L} \pm 76,54$) dan krim mentimun 3% ($479,68 \text{ ng/L} \pm 161,73$) cenderung menyebabkan kadar HA lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa perlakuan ($648,89 \text{ ng/L} \pm 59,83$), dengan perbedaan yang bermakna secara statistik. Sebaliknya, krim mentimun 5% ($611,25 \text{ ng/L} \pm 248,61$) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol ($648,89 \text{ ng/L} \pm 59,83$), sehingga dapat diasumsikan memiliki efek mempertahankan kadar HA yang lebih stabil.

5.2. Pembahasan

Pengamatan makroskopis jaringan kulit menggunakan *skin analyzer* (WSDCAM *Mikroskop Digital WS1600 Endoscope Magnifier 1600x, Black*) menunjukkan perbedaan morfologis yang jelas antara kelompok kontrol sehat dan kelompok model xerosis cutis. Kulit pada kelompok kontrol sehat memperlihatkan integritas epidermal yang utuh dengan permukaan halus, tekstur seragam, dan distribusi pigmen yang homogen. Tidak tampak adanya deskuamasi, retakan, maupun perubahan warna kulit yang menandakan fungsi barrier kulit dalam keadaan optimal. Sebaliknya, pada kelompok model xerosis cutis derajat II (K2), visualisasi mikroskopik memperlihatkan permukaan kulit yang mengalami perubahan struktural signifikan. Teramati adanya kekasaran kulit, scaling berupa sisik halus hingga sedang, serta retakan superfisial yang menyebar di permukaan. Ciri-ciri ini merepresentasikan disfungsi barrier kulit dan penurunan kadar hidrasi stratum korneum, sebagaimana dijelaskan dalam patofisiologi xerosis cutis. Temuan ini sejalan dengan kriteria klinis dan visual xerosis derajat II berdasarkan

Overall Dryness Score (ODS), serta sesuai dengan deskripsi terkini dalam literatur dermatologi mengenai manifestasi xerosis pada model hewan.¹¹

Setelah aplikasi krim selama 14 hari, kelompok K3 (ceramide 10%) dan K5 (krim mentimun 5%) menunjukkan perbaikan paling signifikan secara makroskopis, dengan berkurangnya sisik dan tampilan kulit yang lebih rata dan lembap. Kelompok K4 (krim mentimun 3%) menunjukkan perbaikan namun lebih lambat. Hasil ini mendukung temuan sebelumnya bahwa ceramide sebagai emolien oklusif dan ekstrak mentimun sebagai agen humektan dan antioksidan mampu memperbaiki xerosis cutis secara klinis dan visual.⁶

Aquaporin-3 (AQP3) merupakan saluran air dan gliserol yang berperan penting dalam menjaga homeostasis kelembapan epidermis. Penurunan ekspresi AQP3 diketahui berkaitan dengan xerosis cutis, disfungsi skin barrier, dan penurunan elastisitas kulit.⁴ Kelompok kontrol sehat menunjukkan kadar AQP3 yang stabil dan relatif tinggi. Hal ini mencerminkan kondisi fisiologis kulit normal dengan fungsi barrier yang utuh dan hidrasi yang adekuat. AQP3 berperan mempertahankan kelembapan melalui transportasi gliserol dan air, yang merupakan elemen penting dalam menjaga elastisitas dan kelembutan kulit.³

Kelompok K2 menunjukkan kadar AQP3 yang sedikit meningkat dibanding K1, namun kondisi tersebut tidak berkorelasi dengan perbaikan klinis. Peningkatan ini diduga merupakan bentuk kompensasi fisiologis terhadap kerusakan barrier akibat induksi aseton-etanol, namun tidak cukup efektif karena AQP3 juga sensitif terhadap stres oksidatif dan inflamasi lokal.¹¹ Kadar AQP3 tertinggi ditemukan

pada kelompok K3, Ceramide berfungsi sebagai komponen lipid stratum korneum yang dapat meningkatkan hidrasi secara tidak langsung dengan memperkuat struktur barrier, dan juga diduga berperan dalam aktivasi ekspresi AQP3 melalui jalur PPAR- γ .³ Hasil menunjukkan bahwa ceramide tidak hanya berfungsi sebagai emolien pasif, tetapi juga dapat mendukung hidrasi molekuler secara aktif. Kelompok krim ekstrak mentimun konsentrasi 3% menunjukkan kadar AQP3 paling rendah. Konsentrasi 3% belum cukup optimal untuk menstimulasi ekspresi AQP3. Kandungan bioaktif dalam mentimun seperti flavonoid, vitamin C, dan silika diketahui dapat memengaruhi ekspresi AQP3, namun efeknya bergantung pada dosis dan durasi pemberian.⁶ Kelompok krim ekstrak mentimun konsentrasi 5% menunjukkan kadar AQP3 yang lebih tinggi dibanding krim ekstrak mentimun konsentrasi 3% dan mendekati kelompok tanpa perlakuan. Peningkatan konsentrasi ekstrak mentimun memberikan efek positif terhadap ekspresi AQP3, meskipun belum sekuat efek yang dihasilkan oleh ceramide 10%. Mekanisme ini diduga melalui efek antioksidan dan pelepasan dari senyawa aktif dalam ekstrak mentimun, seperti vitamin C dan polifenol yang mendukung sintesis protein saluran air di epidermis.⁴

Pada kelompok K4 krim ekstrak mentimun konsentrasi 3% dan K5 krim ekstrak mentimun konsentrasi 5% lebih rendah dibandingkan kelompok K2 kontrol negatif. Secara teoretis dijelaskan sebagai bentuk kompensasi fisiologis sementara, sel epitel berusaha meningkatkan ekspresi AQP3 untuk mengatasi kerusakan skin barrier dan hidrasi yang terganggu. Namun, ekspresi ini tidak efektif secara klinis karena AQP3 sensitif terhadap stres oksidatif lokal, yang juga menurunkan

funksinya dan akhirnya menurunkan hidrasi lebih lanjut. Hal ini selaras dengan literatur yang menunjukkan bahwa AQP3 menurun pada kulit kering dan penuaan karena stres oksidatif dan penuaan intrinsik.⁵⁰

Aktivasi AQP3 menunjukkan kecenderungan peningkatan pada kelompok ceramide dan krim ekstrak mentimun 5%, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok. Ketidaksignifikanan ini dipengaruhi oleh waktu pengambilan sampel yang tidak bertepatan dengan fase puncak ekspresi AQP3. AQP3 pada kulit mengikuti pola dinamis. Pada hari ke-1 hingga ke-3, ekspresi AQP3 mulai meningkat sebagai respons awal terhadap stres epidermal, dipicu oleh aktivasi jalur transkripsi seperti PPAR- γ , Nrf2, dan EGFR. Peningkatan ini bertujuan untuk memperbaiki sawar kulit melalui peningkatan hidrasi dan transport gliserol.⁵¹ Pada hari ke-4 hingga ke-7, AQP3 mencapai ekspresi maksimal. Pada fase ini, peran AQP3 sangat penting dalam meningkatkan kelembapan kulit, mempercepat migrasi keratinosit, dan memperkuat proses penyembuhan serta perbaikan jaringan. Namun, setelah fase ini, sekitar hari ke-10 hingga ke-14, di mana ekspresi AQP3 mulai menurun ke tingkat basal atau mengalami downregulasi transien. Penurunan ini merupakan bentuk regulasi fisiologis kulit seiring membaiknya hidrasi dan menurunnya stres oksidatif, yang menyebabkan jalur aktivasi seperti MAPK/ERK dan PI3K/AKT menjadi tidak aktif. Pola ekspresi ini mencerminkan mekanisme adaptasi alami kulit untuk mempertahankan keseimbangan struktural dan fungsionalnya.^{52,53}

Studi sebelumnya menunjukkan bahwa ekspresi AQP3 meningkat secara signifikan dalam 3–7 hari pertama setelah aplikasi topikal agen pelembap seperti

ceramide, namun kemudian menurun seiring regulasi homeostatik dan adaptasi.⁵⁴ Dalam penelitian ini, sampel diambil pada hari ke-14, sehingga ekspresi AQP3 yang awalnya meningkat kemungkinan telah kembali menurun, dan tidak lagi mencerminkan perbedaan yang signifikan antar kelompok.

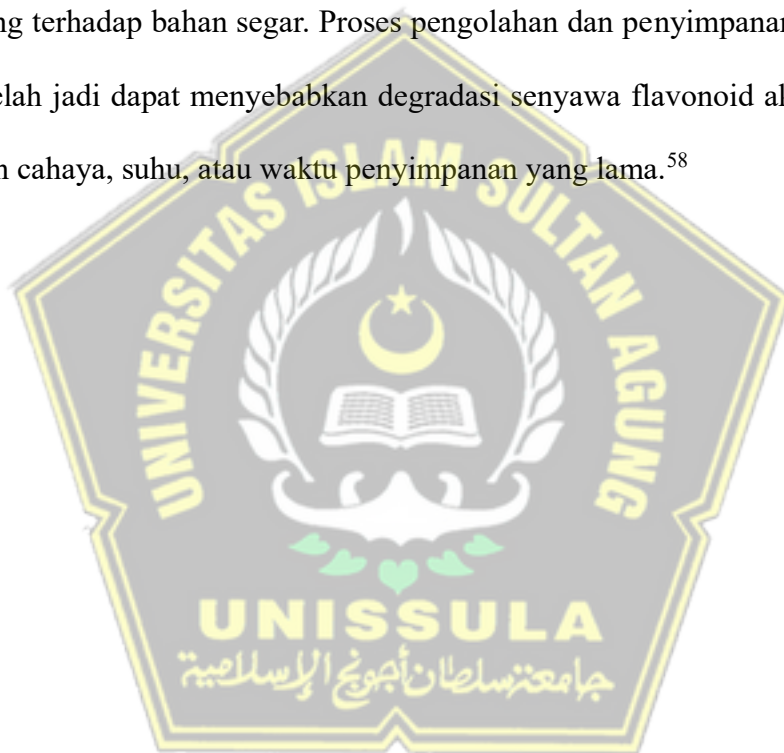
Hyaluronic Acid (HA) merupakan glikosaminoglikan utama yang terdapat di dermis dan epidermis, berfungsi untuk mempertahankan kelembapan kulit melalui kapasitas retensi air yang tinggi. Penurunan kadar HA berhubungan dengan kekeringan kulit, penurunan elastisitas, serta penuaan dini.⁵⁵ Kadar HA tertinggi ditemukan pada kelompok tikus sehat, sesuai dengan kondisi fisiologis normal kulit. Keberadaan HA dalam konsentrasi optimal mendukung hidrasi jaringan dan integritas struktur dermo-epidermal. Ini juga mengindikasikan aktivitas enzim *Hyaluronan Synthase* (HAS) yang baik serta minimnya aktivitas hyaluronidase, yang mendegradasi HA.⁵⁵ Meskipun mengalami induksi xerosis, kadar HA pada kelompok tanpa perlakuan hanya sedikit menurun dibanding kelompok sehat, respons awal terhadap hilangnya kelembapan. Namun, retensi air tetap terganggu akibat kerusakan barrier mekanis dan meningkatnya aktivitas enzim perusak HA, seperti hyaluronidase, yang dipicu oleh stres oksidatif.⁵⁶

Kadar HA pada kelompok Ceramide 10% justru paling rendah di antara semua kelompok. Hal ini dapat disebabkan oleh fakta bahwa ceramide bekerja lebih dominan sebagai oklusif lipid untuk memperkuat barrier, namun tidak langsung meningkatkan sintesis HA secara molekuler. Selain itu, tidak adanya kandungan bioaktif yang merangsang HAS atau menghambat hyaluronidase turut berkontribusi terhadap rendahnya kadar HA.^{55,56}

Kadar *Hyaluronic Acid* (HA) cenderung mengalami penurunan pada kelompok perlakuan K4 krim ekstrak mentimun konsentrasi 3% dan K5 krim ekstrak mentimun konsentrasi 5% dibandingkan kelompok K2 kontrol negatif. Ekstrak mentimun mengandung vitamin C dan flavonoid yang berperan ganda sebagai antioksidan dan humektan alami. Vitamin C memiliki kemampuan untuk mengaktivasi enzim *Hyaluronan Synthase* (HAS) sehingga meningkatkan sintesis *hyaluronic acid* (HA), sekaligus menghambat aktivitas hyaluronidase yang berperan dalam degradasi HA. Namun, efektivitas mekanisme ini sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan durasi aplikasi. Pada konsentrasi 3% dan 5%, kemungkinan terjadi respons stimulasi awal terhadap peningkatan HA, tetapi selanjutnya degradasi lebih dominan akibat stres oksidatif residual atau aktivitas hyaluronidase yang belum sepenuhnya terkendali. Kondisi ini berbeda dengan ceramide 10% yang memperbaiki hidrasi kulit melalui mekanisme oklusif lipid, tanpa secara langsung memengaruhi sintesis HA. Pada pengambilan sampel di hari ke-14, perubahan kadar HA pada kelompok perlakuan ekstrak mentimun tidak optimal terdeteksi, karena ekspresi molekuler sudah mengalami regulasi homeostatik dan cenderung menurun secara fisiologis.⁵⁷

Penelitian ini membuktikan adanya perbaikan makroskopis jaringan kulit yang sesuai dengan gambaran klinis xerosis cutis derajat II, Namun, terdapat keterbatasan, terutama terkait analisis ekspresi *Aquaporin-3* (AQP3). Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-14, sementara ekspresi AQP3 diketahui mencapai puncaknya antara hari ke-3 hingga ke-7 pasca aplikasi topikal, sehingga kemungkinan peningkatan ekspresi tidak terdeteksi secara optimal. Analisis AQP3

menggunakan jaringan kulit yang bersifat invasif dan tidak memungkinkan pengamatan longitudinal, membatasi pemantauan perubahan ekspresi AQP3 secara dinamis. Keterbatasan lainnya adalah hasil kadar flavonoid total dalam ekstrak mentimun tergolong rendah, yaitu hanya sebesar 0,0021 mg QE/g ekstrak. Rendahnya kadar ini kemungkinan besar disebabkan oleh penggunaan ekstrak mentimun siap pakai yang diperoleh secara komersial, bukan dari proses ekstraksi langsung terhadap bahan segar. Proses pengolahan dan penyimpanan pada ekstrak yang telah jadi dapat menyebabkan degradasi senyawa flavonoid akibat oksidasi, paparan cahaya, suhu, atau waktu penyimpanan yang lama.⁵⁸



BAB VI

KESIMPULAN

6.1. Kesimpulan

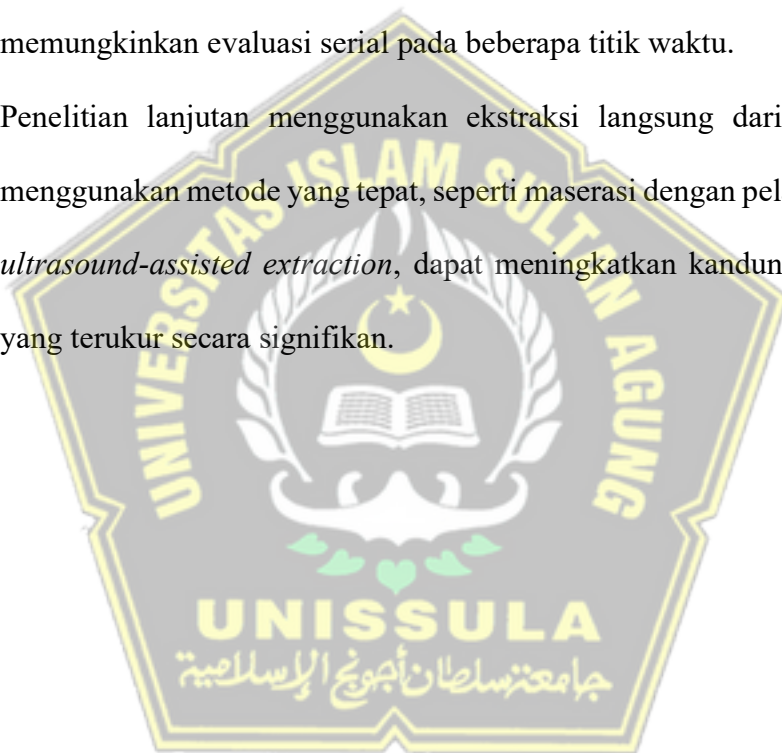
Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Pemberian krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) tidak memberikan pengaruh yang signifikan secara statistik terhadap kadar Aquaporin-3, namun memberikan pengaruh terhadap kadar *Hyaluronic Acid* pada jaringan kulit tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II.
- 2) Pemberian krim ekstrak mentimun belum menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kadar Aquaporin-3 (AQP3) pada jaringan kulit tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II.
- 3) Pemberian krim ekstrak mentimun berpengaruh secara signifikan terhadap kadar Hyaluronic Acid (HA) pada jaringan kulit tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II.
- 4) Krim ekstrak mentimun 5% memberikan efek yang lebih baik dalam mempengaruhi kadar *Hyaluronic Acid* (HA) dibandingkan dosis 3% pada jaringan kulit tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II, namun tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kadar Aquaporin-3 (AQP3).

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan sebagai berikut:

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengambilan sampel pada waktu yang lebih awal, yaitu antara hari ke-3 hingga ke-7 pasca aplikasi agen topikal.
2. Melakukan pengukuran kadar AQP3 menggunakan serum darah yang memungkinkan evaluasi serial pada beberapa titik waktu.
3. Penelitian lanjutan menggunakan ekstraksi langsung dari bahan segar menggunakan metode yang tepat, seperti maserasi dengan pelarut polar atau *ultrasound-assisted extraction*, dapat meningkatkan kandungan flavonoid yang terukur secara signifikan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Augustin M, Wilsmann-Theis D, Körber A, et al. Diagnosis and treatment of xerosis cutis – a position paper. *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology* 2019; 17: 3–33.
2. Görög A, Bánvölgyi A, Holló P. Characteristics of the ageing skin, xerosis cutis and its complications. *Developments in Health Sciences* 2022; 4: 77–80.
3. Bollag WB, Aitkens L, White J, et al. Aquaporin-3 in the epidermis: more than skin deep. *Am J Physiol Cell Physiol* 2020; 318: 1144–1153.
4. Zhang H, Cai W, Shao X. Regulation of aquaporin-3 water permeability by hyaluronan. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2021; 23: 25706–25711.
5. Mawardi P, Oktaviana T, Murastami A, et al. Profile of Skin Diseases in The Ederley at Nursing House Surakarta. *Health and Medical Journal* 2025; 7: 56–63.
6. Shruti K, Dighole S, Alfisha M. Evaluation Of Moisturizing Cream By Using Cucumber Extract. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.36713/epra2016.
7. Barcelos RCS, de Mello-Sampayo C, Antoniazzi CTD, et al. Oral supplementation with fish oil reduces dryness and pruritus in the acetone-induced dry skin rat model. *J Dermatol Sci* 2015; 79: 298–304.
8. Raina N, Rani R, Thakur VK, et al. New Insights in Topical Drug Delivery for Skin Disorders: From a Nanotechnological Perspective. *ACS Omega* 2023; 8: 19145–19167.
9. Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *International Journal of Experimental Pathology* 2020; 101: 21–37.
10. Bravo B, Correia P, Gonçalves Junior JE, et al. Benefits of topical hyaluronic acid for skin quality and signs of skin aging: From literature review to clinical evidence. *Dermatol Ther* 2022; 35: 1–9.
11. Karimi N. Aquaporin Channels in Skin Physiology and Aging Pathophysiology : Investigating Their Role in Skin Function and the Hallmarks of Aging.
12. Karimi N, Ahmadi V. Aquaporin Channels in Skin Physiology and Aging Pathophysiology: Investigating Their Role in Skin Function and

the Hallmarks of Aging. *Biology (Basel)*; 13. Epub ahead of print 1 November 2024. DOI: 10.3390/biology13110862.

13. Tricarico PM, Mentino D, De Marco A, et al. Aquaporins Are One of the Critical Factors in the Disruption of the Skin Barrier in Inflammatory Skin Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*; 23. Epub ahead of print 1 April 2022. DOI: 10.3390/ijms23074020.
14. Yde J, Keely SJ, Moeller HB. Expression, regulation and function of Aquaporin-3 in colonic epithelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*; 1863. Epub ahead of print 1 July 2021. DOI: 10.1016/j.bbamem.2021.183619.
15. Salih ARC, Farooqi HMU, Amin H, et al. Hyaluronic acid: comprehensive review of a multifunctional biopolymer. *Futur J Pharm Sci*; 10. Epub ahead of print 24 April 2024. DOI: 10.1186/s43094-024-00636-y.
16. Matalqah S, Lafi Z, Asha SY. Hyaluronic Acid in Nanopharmaceuticals: An Overview. *Current Issues in Molecular Biology* 2024; 46: 10444–10461.
17. Damayanti, Putri N, Triesayuningtyas DC, et al. The correlation between comorbid factors and xerosis cutis in elderly. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*.
18. Moniaga CS, Tominaga M, Takamori K. Mechanisms and management of itch in dry skin. *Acta Dermato-Venereologica* 2020; 100: 10–21.
19. Lee WJ, Shim WS. Cutaneous Neuroimmune Interactions of TSLP and TRPV4 Play Pivotal Roles in Dry Skin-Induced Pruritus. *Front Immunol*; 12. Epub ahead of print 2 December 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.772941.
20. Seong YJ, Lin G, Kim BJ, et al. Hyaluronic Acid-Based Hybrid Hydrogel Microspheres with Enhanced Structural Stability and High Injectability. *ACS Omega* 2019; 4: 13834–13844.
21. Amin R, Völzer B, Genedy-Kalyoncu M El, et al. The prevalence and severity of dry skin and related skin care in older adult residents in institutional long-term care: A cross-sectional study. *Geriatr Nurs (Minneap)* 2023; 54: 331–340.
22. Ikarashi N, Kon R, Kaneko M, et al. Relationship between aging-related skin dryness and aquaporins. *Int J Mol Sci*; 18. Epub ahead of print 18 July 2017. DOI: 10.3390/ijms18071559.
23. Papa V, Li Pomi F, Borgia F, et al. Immunosenescence and Skin: A State of Art of Its Etiopathogenetic Role and Crucial Watershed for

Systemic Implications. *International Journal of Molecular Sciences*; 24. Epub ahead of print 1 May 2023. DOI: 10.3390/ijms24097956.

24. Ha NG, Kim SL, Lee SH, et al. A novel hydrogel-based moisturizing cream composed of hyaluronic acid for patients with xerosis: An intraindividual comparative analysis. *Skin Research and Technology*; 29. Epub ahead of print 1 November 2023. DOI: 10.1111/srt.13499.
25. Amin R, Lechner A, Vogt A, et al. Molecular characterization of xerosis cutis: A systematic review. *PLoS ONE*; 16. Epub ahead of print 1 December 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0261253.
26. Skayem C, Bouaziz JD, Taieb C, et al. Impact of xerosis cutis, with or without skin disease, on health-related quality of life: A prospective study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2024; 38: e476–e477.
27. Krm S. Origin, Distribution, Taxonomy, Botanical Description, Genetics, Genetic Diversity And Breeding Of Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Development Research* 2023; 13: 61542–61559.
28. Jadhav SA, Gachande SD, Jadhav DS, et al. Formulation And Evaluation Of Herbal Face Gel Using Cucumber Fruit Extract. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences* 2024; 2: 1–9.
29. Regar YB, Maimunah S, Sapitri A. *Formulasi Sediaan Krim Masker Wajah Sebagai Pelembab Dari Kombinasi Ekstrak Umbi Bit (Beta Vulgaris L) Dan Sari Buah Mentimun (Cucumis sativus L),* <https://journal-mandiracendikia.com/jikmc> (2022).
30. Ikarashi N, Mizukami N, Kon R, et al. Study of the mechanism underlying the onset of diabetic xeroderma focusing on an aquaporin-3 in a streptozotocin-induced diabetic mouse model. *Int J Mol Sci*; 20. Epub ahead of print 1 August 2019. DOI: 10.3390/ijms20153782.
31. Chauhan L, Gupta S. Creams: A Review on Classification, Preparation Methods, Evaluation and its Applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 2020; 10: 281–289.
32. Rosita C, Prakoeswa S. *Wistar Rat as Photoaging Mouse Model*. 2023.
33. Damayanti, Putri NS, Triesayuningtyas DC, et al. The correlation between comorbid factors and xerosis cutis in elderly. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists* 2023; 33: 507–512.
34. Ikarashi N, Mizukami N, Pei C, et al. Role of cutaneous aquaporins in the development of xeroderma in type 2 diabetes. *Biomedicines* 2021; 9: 1–14.

35. Puspitasari I, Tivani I, Purwantiningrum H, et al. Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Krim Anti Acne Ekstrak Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica L.*), Mentimun (*Cucumis sativus L.*) DAN KOMBINASINYA, <http://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/parapemikir> (2020).
36. Wilsya M, Agustin Y, Studi Farmasi STIK Siti Khadijah Palembang P. Optimasi Formula Gel Ekstrak Mentimun (*Cucumis Sativus*) Sebagai Pelembab Kulit Dengan Variasi Tragakan Dan Metil Ester Sulfonat (Mes). 2023.
37. Swarjana IK. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Yogyakarta: ANDI, 2023.
38. Fluhr JW, Alexis AF, Andriessen A, et al. A global perspective on the treatment and maintenance of mature skin using gentle cleansers and moisturizers. *International Journal of Dermatology*. Epub ahead of print 1 December 2024. DOI: 10.1111/ijd.17375.
39. Suparwi AD, Yanti EL, Harlisa P, et al. Topical application of Acetone and ethanol causes grade II Xerosis cutis in which is commonly found in the elderly , atopic individuals , and patients with chronic skin acetone-ether , pure acetone , and sodium lauryl sulfate (SLS) combinations in induc. 4–7.
40. PT. Derma Elok Farma. Base Cream - Material Safety Data Sheet.
41. Mehra Erfiza N. *Analisis Total Flavonoid dan Vitamin C pada Beberapa Jenis Mentimun (Cucumis sativus L.) (Analysis of Total Flavonoid and Vitamin C on Several Types of Cucumber (Cucumis sativus L.))*, www.jim.unsyiah.ac.id/JFP (2018).
42. Hyundai Bioland. Cucumber Extract (Cucumis Sativus). PT Menjangan Sakti (MENSA GROUP).
43. Meilina R, Fhonna P, Dina P, et al. *Formulasi Sediaan Krim Pelembab Ekstrak Buah Pepaya (Carica Papaya L.) Dan Uji Efektivitas Terhadap Xerosis Pada Kaki Fruit Extract Moisturizing Cream Formulation Papaya (Carica papaya L.) and Effectiveness Test Against Xerosis of The Feet*. 2024.
44. Kamasan Nyoman Arijana IG, Wayan Sugiritama I, Gusti Ayu Dewi Ratnayanti I. Pengaruh Krim Topikal Daun Kelor Terhadap Kelembaban Kulit Yang Terpapar Sinar Ultraviolet B. *Jurnal Medika Udayana*; 12. Epub ahead of print 2023. DOI: 10.24843.MU.2023.V12.i11.P17.
45. Mârza SM, Dăescu AM, Purdoi RC, et al. Healing of Skin Wounds in Rats Using Creams Based on Symphytum Officinale Extract. *Int J Mol Sci*; 25. Epub ahead of print 1 March 2024. DOI: 10.3390/ijms25063099.

46. Williams JP, Abbatemarco JR, Galli JJ, et al. Aquaporin-4 Autoantibody Detection by ELISA: A Retrospective Characterization of a Commonly Used Assay. *Mult Scler Int* 2021; 2021: 1–6.
47. Shaw KE, Bersenas AM, Bateman SW, et al. Validation of a commercial human ELISA to measure hyaluronic acid concentration in feline plasma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2022; 34: 86–89.
48. del Marmol D, Holtze S, Kichler N, et al. Abundance and size of hyaluronan in naked mole-rat tissues and plasma. *Sci Rep*; 11. Epub ahead of print 1 December 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-86967-9.
49. Dewanti D, Suparti D, Si M, et al. *Metode Statistika Populer untuk Penelitian*, www.exsight.id (2023).
50. Li J, Tang H, Hu X, et al. Aquaporin-3 gene and protein expression in sun-protected human skin decreases with skin ageing. *Australasian Journal of Dermatology* 2010; 51: 106–112.
51. Hara-Chikuma M, Verkman AS. Aquaporin-3 functions as a glycerol transporter in mammalian skin. *Biol Cell* 2005; 97: 479–486.
52. da Silva IV, Silva AG, Pimpão C, et al. Skin aquaporins as druggable targets: Promoting health by addressing the disease. *Biochimie* 2021; 188: 35–44.
53. Bollag WB, Aitkens L, White J, et al. Aquaporin-3 in the epidermis: more than skin deep. *Am J Physiol Cell Physiol* 2020; 318: 1144–1153.
54. Dumas A, Knaus UG. Raising the ‘Good’ Oxidants for Immune Protection. *Front Immunol* 2021; 12: 1–19.
55. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol*; 4. Epub ahead of print 2012. DOI: 10.4161/derm.21923.
56. Berdiaki A, Neagu M, Spyridaki I, et al. Hyaluronan and Reactive Oxygen Species Signaling—Novel Cues from the Matrix? *Antioxidants* 2023; 12: 1–26.
57. Bravo B, Correia P, Gonçalves Junior JE, et al. Benefits of topical hyaluronic acid for skin quality and signs of skin aging: From literature review to clinical evidence. *Dermatol Ther* 2022; 35: 1–9.
58. Ioannou I, Chekir L, Ghouli M. Effect of heat treatment and light exposure on the antioxidant activity of flavonoids. *Processes*; 8. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.3390/pr8091078.