

**PENGARUH KRIM EKSTRAK MENTIMUN
(*Cucumis sativus*) TERHADAP KADAR
TNF- α DAN TGF- β**

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

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Sofa

MBK.24.23.010473

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2025**

TESIS
**PENGARUH KRIM EKSTRAK MENTIMUN
(*Cucumis sativus*) TERHADAP KADAR
TNF- α DAN TGF- β**

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

disusun oleh:

Sofa

MBK.24.23.010473

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
NIP.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.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Sofa

Tempat / Tanggal lahir : Purwokerto, 10 Mei 1989

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK. Pertiwi Purwokerto : Lulus tahun 1995
2. SD Al-Irsyad Purwokerto : Lulus tahun 2001
3. SMP Al-Irsyad Purwokerto : Lulus tahun 2004
4. SMA 1 Purwokerto : Lulus tahun 2007
5. S1 Fakultas Kedokteran Unsoed : Lulus tahun 2011
6. Profesi Dokter Unsoed : Lulus tahun 2014
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

- a. Nama Suami : Dr. Fateh Jamal Nahdi, Sp. U
- b. Nama Anak : - Ayman Fateh Bisyr
 - i. Fatimah Fateh Bisyr
 - ii. Salma Fateh Bisyr
 - iii. Aisyah Fateh Bisyr

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga proposal tesis dengan judul **PENGARUH KRIM EKSTRAK MENTIMUN (*Cucumis sativus*) TERHADAP KADAR TNF- α DAN TGF- β (Studi Eksperimental pada Tikus Betina Galur Wistar dengan Model *Xerosis cutis* Derajat II)** ini dapat penulis selesaikan.

Proposal 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:

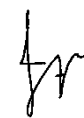
1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus sebagai penguji pertama Bapak Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B., FINACS
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. Dr. Siti Thomas Z, S.KM, M.Kes selaku dosen pembimbing kedua yang memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE, Subsp. DKE, FINS DV, FAADV selaku penguji kedua yang sudah meluangkan waktunya untuk saya.

7. Dr. dr. Chodidjah M. Kes selaku penguji ketiga yang sudah bersedia meluangkan waktunya untuk saya.
8. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
9. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
10. Suami, mamah, abi, dan anak-anak saya tercinta, dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
11. 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 proposal 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, Juli 2025
Penulis



(Sofa)

DAFTAR ISI

TESIS	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
1.5 Originalitas Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> (TNF- α)	9
2.1.1 Definisi.....	9
2.1.2 Peran TNF- α dalam Inflamasi.....	9
2.2 Transforming Growth Factor- β (TGF- β)	10
2.2.1 Definisi.....	10
2.2.2 Peran TGF- β dalam Inflamasi dan Penyembuhan Luka	11
2.3 Xerosis cutis.....	12
2.3.1 Definisi.....	12
2.3.2 Etiologi.....	12
2.3.3 Epidemiologi.....	16

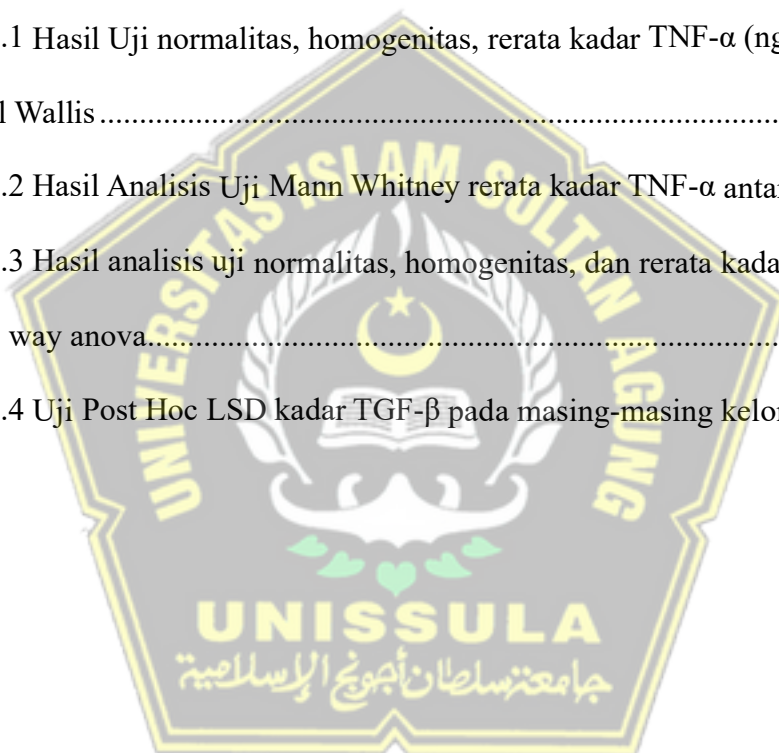
2.3.4 Patofisiologi	16
2.3.5 Penilaian Kulit Kering.....	23
2.4 Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>).....	25
2.5 Taksonomi.....	26
2.5.1 Kandungan Senyawa Kimia Mentimun	27
2.5.2 Ekstraksi Mentimun	28
2.6 Sediaan Krim	30
2.6.1 Keunggulan Sediaan Krim	30
2.6.2 Komponen Krim.....	31
2.7 Model Hewan Uji.....	32
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	34
3.1 Kerangka Teori.....	34
3.2 Kerangka Konsep.....	38
3.3 Hipotesis	38
BAB IV METODE PENELITIAN	39
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	39
4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	40
4.2.1 Variabel Penelitian	40
4.3 Definisi Operasional	40
4.4 Sampel Penelitian	42
4.5 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian.....	43
4.6 Besar Sampel	43
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	44
4.8 Cara Penelitian.....	46
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	59
5.1 Hasil Penelitian.....	59
5.1.1 Hasil Analisis kandungan ekstrak mentimun, Validasi dan Penagamatan Makroskopis Tikus Model Xerosis Cutis Derajat II Setelah perlakuan tiap kelompok	60
5.1.2 Hasil analisis rerata kadar TNF- α pada jaringan kulit tikus dengan model <i>Xerosis cutis</i> Derajat II.....	64
5.1.3 Hasil analisis rerata kadar TGF- β pada jaringan kulit tikus dengan model <i>Xerosis cutis</i> derajat II.	67
5.2 Pembahasan	71
BAB VI KESIMPULAN.....	77

6.1 Kesimpulan.....	77
6.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN	87
Foto Hasil Penelitian	87
Lampiran SPSS.....	91
Foto Makroskopis tikus model Xerosis derajat II	103
Surat <i>Ethical clearance</i>	104



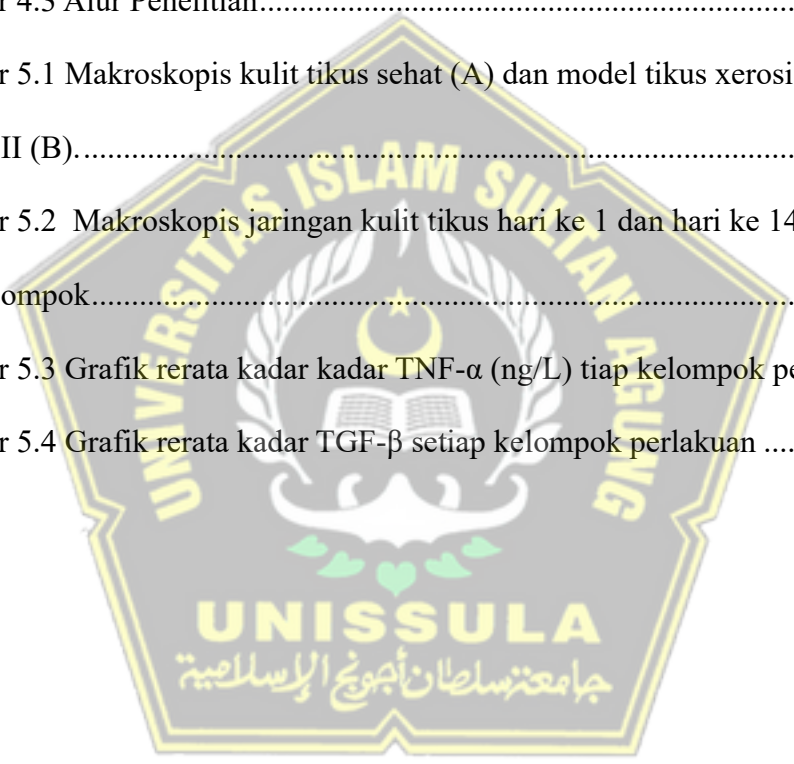
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	5
Tabel 2.1 Penilaian Derajat <i>Xerosis cutis</i> dengan Skor Overall Dry Skin	23
Tabel 4.2 Formulasi Krim Ekstrak Mentimun	49
Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Flavonoid dan Asam Askorbat Ekstrak Mentimun	61
Tabel 5.1 Hasil Uji normalitas, homogenitas, rerata kadar TNF- α (ng/L) dan Uji Kruskal Wallis	64
Tabel 5.2 Hasil Analisis Uji Mann Whitney rerata kadar TNF- α antar kelompok	66
Tabel 5.3 Hasil analisis uji normalitas, homogenitas, dan rerata kadar TGF- β dan uji One way anova	68
Tabel 5.4 Uji Post Hoc LSD kadar TGF- β pada masing-masing kelompok	70



DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Kerangka Teori	37
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	38
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	39
Gambar 4.2 Pemeriksaan Xerosis cutis secara Visual.....	52
Gambar 4.3 Alur Penelitian.....	58
Gambar 5.1 Makroskopis kulit tikus sehat (A) dan model tikus xerosis cutis derajat II (B).....	61
Gambar 5.2 Makroskopis jaringan kulit tikus hari ke 1 dan hari ke 14 perlakuan tiap kelompok.....	63
Gambar 5.3 Grafik rerata kadar kadar TNF- α (ng/L) tiap kelompok perlakuan...	65
Gambar 5.4 Grafik rerata kadar TGF- β setiap kelompok perlakuan	69



DAFTAR SINGKATAN

AQP3	: <i>Aquaporin-3</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
EGCG	: <i>Epigallocatechin Gallate</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FN1	: <i>Fibronectin 1</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
iNOS	: <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
LTBP	: <i>Latent TGF-β Binding Protein</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
mgQE	: <i>Milligram Quercetin Equivalent</i>
MMPs	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-kappa B</i>
NMF	: <i>Natural Moisturizing Factor</i>
O/W	: <i>Oil-in-Water</i>
ODS	: <i>Overall Dry Skin Score</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
pH	: <i>Potential of Hydrogen</i>
PM10	: <i>Particulate Matter dengan diameter $\leq 10 \mu\text{m}$</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-β</i>
TGF- β R	: <i>Transforming Growth Factor-β Receptor</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinases</i>
TMB	: <i>3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-Visible Spectrophotometry</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
W/O	: <i>Water-in-Oil</i>

ABSTRAK

Latar Belakang: Xerosis cutis merupakan kondisi kulit kering yang ditandai dengan disfungsi sawar kulit, peningkatan kadar sitokin proinflamasi seperti TNF- α , dan penurunan faktor regeneratif seperti TGF- β . Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) mengandung flavonoid dan vitamin C yang berpotensi sebagai agen antiinflamasi dan stimulator regenerasi kulit.

Tujuan: Menilai pengaruh krim ekstrak mentimun terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada tikus Wistar betina model xerosis cutis derajat II.

Metode: Penelitian eksperimental in vivo ini menggunakan 30 ekor tikus Wistar betina yang dibagi ke dalam lima kelompok (n=6): K1 (normal), K2 (kontrol negatif), K3 (ceramide 10%), K4 (krim mentimun 3%), dan K5 (krim mentimun 5%). Induksi xerosis dilakukan dengan aseton-etanol 1:1 selama tujuh hari, kemudian perlakuan krim diberikan selama 14 hari. Kadar TNF- α dan TGF- β jaringan kulit dianalisis menggunakan metode ELISA.

Hasil: Secara makroskopis, kelompok K5 menunjukkan perbaikan kulit paling optimal. Rerata kadar TNF- α pada K5 sebesar $284,36 \pm 55,27$ ng/L, lebih kecil dibandingkan K2 ($175,69 \pm 24,14$ ng/L) dan K3 ($176,98 \pm 35,01$ ng/L) ($p < 0,05$). Untuk TGF- β , nilai pada K3 ($506,80 \pm 95,80$ ng/L) lebih besar dibandingkan K5 ($457,56 \pm 148,18$ ng/L). Perbedaan signifikan juga terdeteksi antara K5 dan K4 ($286,19 \pm 61,67$ ng/L) ($p = 0,014$).

Kesimpulan: Krim ekstrak mentimun 5% terbukti mampu meredam respons inflamasi dengan menurunkan kadar TNF- α secara signifikan pada model xerosis cutis derajat II. Namun, meskipun terdapat kecenderungan peningkatan kadar TGF- β yang mengarah pada stimulasi proses regenerasi kulit, perubahan tersebut belum signifikan secara statistik dibandingkan kontrol negatif.

Kata kunci: *Cucumis sativus*, TNF- α , TGF- β , xerosis cutis, tikus Wistar.

ABSTRACT

Background: Xerosis cutis is a dry skin condition characterized by skin barrier dysfunction, increased levels of proinflammatory cytokines such as TNF- α , and decreased regenerative factors such as TGF- β . Cucumber extract (*Cucumis sativus*) contains flavonoids and vitamin C, which have potential as anti-inflammatory agents and stimulators of skin regeneration.

Objective: To evaluate the effect of cucumber extract cream on TNF- α and TGF- β levels in female Wistar rats with grade II xerosis cutis.

Methods: This in vivo experimental study involved 30 female Wistar rats randomly divided into five groups (n=6): K1 (normal), K2 (negative control), K3 (10% ceramide), K4 (3% cucumber cream), and K5 (5% cucumber cream). Xerosis was induced by topical application of a 1:1 acetone-ethanol solution for seven days, followed by cream treatment for 14 days. TNF- α and TGF- β levels in skin tissue were analyzed using the ELISA method.

Results: Macroscopically, the K5 group showed the most optimal skin improvement. The mean TNF- α level in K5 was 284.36 ± 55.27 ng/L, smaller than in K2 (175.69 ± 24.14 ng/L) and K3 (176.98 ± 35.01 ng/L) ($p < 0.05$). For TGF- β , the value in K3 (506.80 ± 95.80 ng/L) was greater than in K5 (457.56 ± 148.18 ng/L). A significant difference was also detected between K5 and K4 (286.19 ± 61.67 ng/L) ($p = 0.014$).

Conclusion: The 5% cucumber extract cream was proven to suppress the inflammatory response by significantly reducing TNF- α levels in a grade II xerosis cutis model. However, although there was a tendency for increased TGF- β levels indicating stimulation of the skin regeneration process, this change was not statistically significant compared with the negative control.

Keywords: *Cucumis sativus*, TNF- α , TGF- β , xerosis cutis, Wistar rats.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Xerosis cutis adalah kondisi kulit kering yang sering ditemukan pada individu yang terpapar lingkungan dengan kelembapan rendah atau pada populasi lanjut usia.¹ Kondisi ini menyebabkan kulit menjadi kering, gatal, retak, dan lebih rentan terhadap infeksi. Pendekatan penanganan *xerosis cutis* selama ini telah terbukti efektif dalam meningkatkan hidrasi kulit, namun sering kali dapat menyebabkan iritasi pada kulit sensitif. Hal ini menunjukkan perlunya alternatif terapi yang lebih aman, efektif, dan berbasis molekuler, salah satunya dengan menggunakan bahan alami yang memiliki potensi terapeutik yang lebih luas.^{2,3} Salah satu bahan alami yang menarik untuk terapi *xerosis cutis* adalah ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*). Mentimun dipilih karena memiliki kandungan air yang tinggi, serta komponen bioaktif seperti vitamin C, flavonoid, dan tanin yang diketahui memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi.^{4,5}

Senyawa-senyawa ini berpotensi untuk mengurangi peradangan, meningkatkan hidrasi, serta memperbaiki *barrier* kulit tanpa menimbulkan efek samping. Penelitian mengenai efektivitas mentimun dalam mengatasi *xerosis cutis* masih terbatas, oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi potensi bahan alami ini.^{6,7} Paparan faktor ekstrinsik seperti bahan kimia juga dapat berperan dalam menyebabkan atau memperburuk

kondisi xerosis cutis. Beberapa bahan kimia, seperti etanol dan aseton, dapat merusak lapisan pelindung kulit dengan menghilangkan lipid yang ada di stratum korneum.^{8,9}

Kerusakan pada *barrier* kulit ini menyebabkan peningkatan transepidermal water loss (TEWL) dan membuat kulit lebih rentan terhadap dehidrasi dan iritasi. Selain itu, paparan bahan kimia ini dapat memicu produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang berperan dalam proses inflamasi kulit. ROS adalah molekul yang sangat reaktif yang dapat merusak sel-sel kulit, termasuk lipid, protein, dan DNA, yang pada gilirannya memperburuk kerusakan kulit dan memperlambat proses penyembuhan. Pada *xerosis cutis*, terdapat peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α yang memperburuk kerusakan kulit, sementara kadar TGF- β yang berperan dalam regenerasi kulit menurun.^{2,10}

Pendekatan terapi *xerosis cutis* saat ini umumnya berfokus pada penggunaan emolien atau pelembap untuk meredakan gejala klinis. Pendekatan terapi *xerosis cutis* saat ini berfokus pada penggunaan pelembap seperti urea, ammonium lactate, dan petrolatum. Pemilihan pelembap perlu disesuaikan dengan kondisi kulit dan toleransi pengguna.¹¹ Ketidakseimbangan antara TNF- α dan TGF- β ini menjadi hambatan dalam pemulihan kulit, sehingga diperlukan terapi yang dapat menyeimbangkan keduanya. Mentimun, dengan kandungan antioksidan dan sifat anti-inflamasi, berpotensi menurunkan kadar TNF- α yang berlebihan dan meningkatkan kadar TGF- β , sehingga dapat membantu memperbaiki struktur dan fungsi kulit yang terganggu.^{4,7}

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kim *et al.*¹², antioksidan seperti *epigallocatechin gallate* (EGCG) dan resveratrol mampu menekan produksi TNF- α dan IL-6, dua sitokin pro-inflamasi utama yang berperan dalam memperburuk kondisi kulit kering. Penelitian ini menunjukkan bahwa modulasi sitokin pro-inflamasi dapat membantu memperbaiki hidrasi kulit serta memulihkan fungsi penghalang kulit pada model tikus dengan kerusakan akibat paparan PM10, yakni *particulate matter* dengan diameter $\leq 10 \mu\text{m}$ yang berasal dari polusi udara dan diketahui dapat menyebabkan stres oksidatif serta inflamasi pada kulit. Hal ini relevan dengan potensi ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) yang juga kaya akan senyawa bioaktif seperti flavonoid dan vitamin C, yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi.⁶

Penelitian menunjukkan bahwa flavonoid dalam mentimun diketahui dapat menghambat *produksi Reactive Oxygen Species* (ROS) yang sering memicu stres oksidatif dan meningkatkan kadar TNF- α pada kulit yang rusak.¹³ Selain itu, kandungan vitamin C dalam mentimun berfungsi sebagai kofaktor untuk sintesis kolagen, mendukung regenerasi jaringan, dan meningkatkan aktivitas *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β). Aktivasi TGF- β ini membantu memperbaiki struktur dan fungsi matriks ekstraseluler, yang sangat penting untuk regenerasi kulit pada kondisi *xerosis cutis* derajat II. Beberapa penelitian telah menunjukkan potensi bioaktif mentimun dalam modulasi inflamasi dan regenerasi jaringan, namun studi mengenai efeknya dalam bentuk sediaan krim masih terbatas. Penelitian ini dilakukan untuk mengisi

kesenjangan tersebut dengan mengevaluasi mentimun dalam bentuk sediaan krim terhadap *xerosis cutis* derajat II.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh aplikasi krim ekstrak mentimun terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada model *xerosis cutis* derajat II. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah yang lebih kuat mengenai potensi mentimun sebagai alternatif terapi yang lebih aman dan efektif dalam mengatasi masalah *xerosis cutis*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada tikus betina galur wistar dengan model *xerosis cutis* derajat II?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh krim ekstrak mentimun terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada tikus wistar betina model *xerosis cutis* derajat II.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh krim ekstrak mentimun terhadap kadar TNF- α pada tikus wistar betina model *xerosis cutis* derajat II.
2. Menganalisis pengaruh krim ekstrak mentimun terhadap kadar TGF- β pada tikus wistar betina model *xerosis cutis* derajat II.

3. Menganalisis perbedaan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun dosis 3% dan 5% pada tikus wistar betina model *xerosis cutis* derajat II.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan mengenai peran krim ekstrak mentimun dalam memodulasi kadar TNF- α dan TGF- β pada kondisi *xerosis cutis* derajat II serta memberikan wawasan baru dalam pengembangan terapi berbasis bahan alami untuk perawatan kulit kering.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendukung pemanfaatan krim berbasis ekstrak mentimun sebagai alternatif perawatan yang aman, efektif, dan alami untuk mengatasi masalah kulit kering, khususnya pada kondisi *xerosis cutis* derajat II.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil
Kim <i>et al</i> , ¹² 2024	Effects of Antioxidants on Skin Hydration, Inflammatory Cytokines, and Keratinocyte Differentiation Markers in PM10-Exposed Skin Barrier-Disrupted Mice	In Vivo	Antioksidan seperti EGCG dan resveratrol menurunkan TNF- α dan IL-6, serta meningkatkan hidrasi kulit pada model tikus dengan penghalang kulit yang terganggu akibat PM10.

Shruti <i>et al.</i> , 2024 ¹⁴	To Formulate and Evaluation of Moisturizing Cream by Using Cucumber Extract	In Vitro	Krim herbal memberikan pelembapan optimal tanpa efek samping, cocok untuk berbagai jenis kulit. Uji stabilitas menunjukkan hasil konsisten pada pH, viskositas, dan efek kelembapan.
Saini, 2023 ¹⁵	Formulation and Evaluation of Aloe-Cucumber Face Cream: A Detox to Summer Skin	In Vitro	Krim yang diformulasikan dengan mentimun dan lidah buaya menunjukkan hasil yang baik dalam pelembapan, homogenitas, dan stabilitas dengan pH optimal untuk kulit.
Haider <i>et al.</i> , 2023 ¹⁶	Characterization, Development, and Evaluation of a Cream by Using Terminalia Chebula and Cucumber Sativus Extracts	In Vitro & In Vivo	TEWL dan kadar melanin menurun signifikan, kelembapan meningkat. Kombinasi ekstrak memberikan efek anti-flek, pemutih, dan pelembap yang optimal. Stabilitas formulasi baik hingga 4 minggu pada berbagai suhu penyimpanan.
Wilsya Agustin, 2023 ¹⁷	& Optimasi Formula Gel Ekstrak Mentimun (Cucumis sativus) sebagai Pelembab Kulit dengan Variasi Tragakan dan MES	In Vitro	Formula tragakan 4% memberikan hasil terbaik pada uji organoleptis, pH, daya sebar, dan daya lekat dibandingkan MES. Gel memberikan kelembapan optimal pada kulit manusia.
Bernardini <i>et al.</i> , 2018 ¹⁸	Water/ethanol extract of Cucumis sativus L. fruit attenuates LPS-induced inflammatory response in endothelial cells	In Vitro	Ekstrak menurunkan ekspresi TLR4 yang merangsang inflamasi; mengurangi sekresi IL-6, IL-8, GM-CSF, dan IL-1 α yang bersifat pro-inflamasi; sekaligus meningkatkan sekresi IL-10 dan IL-18 yang bersifat anti-inflamasi serta meningkatkan ekspresi HO-1 pelindung jaringan; juga menghambat angiogenesis inflamasi.
Agetemor <i>et al.</i> , 2015 ¹⁹	Anti-inflammatory Activity of Cucumis sativus L.	In Vivo	Homogenat buah Cucumis sativus L. dosis 2 dan 4 mL/kg bb secara signifikan menurunkan pembengkakan (edema) kaki tikus yang

diinduksi inflamasi;
menunjukkan aktivitas anti-
inflamasi yang kuat dan tanpa
efek toksik akut pada dosis yang
diuji.

Berdasarkan Tabel 1.1 yang memuat beberapa penelitian terdahulu mengenai ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dan peranannya dalam modulasi sitokin inflamasi serta hidrasi kulit ditemukan sejumlah temuan penting. Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan dari ekstrak mentimun seperti EGCG dan resveratrol dapat menurunkan kadar TNF- α dan IL-6 sekaligus meningkatkan hidrasi kulit pada model tikus dengan gangguan penghalang kulit akibat paparan PM10. Beberapa studi formulasi krim berbasis ekstrak mentimun lebih fokus pada evaluasi stabilitas, pH, dan efek pelembap, tanpa pengukuran biomarker inflamasi secara langsung.¹²

Penelitian menggunakan model in vitro pada sel endotel vaskular memberikan bukti mekanistik bahwa ekstrak mentimun menurunkan ekspresi reseptor TLR4 serta sekresi mediator pro-inflamasi (IL-6, IL-8, GM-CSF, IL-1 α) dan meningkatkan mediator anti-inflamasi (IL-10, IL-18) serta molekul pelindung HO-1.¹⁸ Selanjutnya, penelitian in vivo membuktikan bahwa homogenat buah mentimun secara signifikan menurunkan edema tikus akibat inflamasi, tanpa menunjukkan efek toksik akut.¹⁹

Namun, penelitian ini memiliki pendekatan yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun secara topikal terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada tikus betina galur Wistar model *xerosis cutis* derajat II yang diinduksi aseton dan etanol. Menggunakan

pendekatan intervensional dan pengukuran kuantitatif menggunakan ELISA, penelitian ini memberikan kontribusi baru dalam memahami efektivitas bahan herbal terhadap modulasi inflamasi dan proses regenerasi kulit secara molekuler pada kondisi *xerosis cutis*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α)

2.1.1 Definisi

Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) adalah sitokin pro-inflamasi yang berperan penting dalam mengatur respon imun tubuh terhadap infeksi, cedera jaringan, dan stres oksidatif. TNF- α diproduksi oleh berbagai jenis sel, terutama makrofag, limfosit T, dan sel mast, sebagai respon terhadap rangsangan seperti lipopolisakarida (LPS), sitokin inflamasi lainnya, dan radikal bebas. TNF- α bekerja melalui dua jenis reseptor, yaitu TNF Receptor 1 (TNFR1) dan TNF Receptor 2 (TNFR2).^{20,21}

TNFR1 diekspresikan secara luas di berbagai jaringan tubuh dan sering dikaitkan dengan proses inflamasi akut, apoptosis, dan nekrosis jaringan. Sebaliknya, TNFR2 ditemukan terutama pada sel imun dan memiliki peran dalam regenerasi jaringan serta respon imun adaptif. Aktivasi kedua reseptor ini memicu jalur pensinyalan molekuler yang berbeda, termasuk NF- κ B dan MAPK, yang mengatur ekspresi berbagai gen inflamasi dan molekul adhesi.^{22,23}

2.1.2 Peran TNF- α dalam Inflamasi

TNF- α merupakan salah satu mediator utama dalam respon inflamasi. Pada fase awal inflamasi, TNF- α berperan dalam merekrut sel imun ke area yang terluka atau terinfeksi dengan meningkatkan ekspresi molekul adhesi pada sel endotel seperti ICAM-1 dan VCAM-1. Molekul ini memungkinkan leukosit

bermigrasi ke lokasi inflamasi dan memperkuat respon imun lokal. $\text{TNF-}\alpha$ juga menginduksi aktivasi jalur pensinyalan $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dan MAPK, yang memicu pelepasan sitokin inflamasi lain seperti IL-1 dan IL-6, kemokin, serta enzim pro-inflamasi seperti iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) dan COX-2 (*cyclooxygenase-2*).^{20,22}

Mediator ini meningkatkan vasodilatasi, permeabilitas vaskular, dan produksi radikal bebas yang memperkuat proses inflamasi. Selain itu, $\text{TNF-}\alpha$ terlibat dalam remodeling jaringan dengan mengaktifkan enzim *metalloproteinase* (MMPs), yang membantu degradasi matriks ekstraseluler untuk mendukung migrasi sel imun dan proses penyembuhan luka. Namun, pada inflamasi kronis, aktivitas berlebih dari $\text{TNF-}\alpha$ dan MMPs dapat merusak jaringan dan menyebabkan penyakit inflamasi yang berkepanjangan.^{21,24}

2.2 Transforming Growth Factor- β (TGF- β)

2.2.1 Definisi

Transforming Growth Factor- β (TGF- β) adalah kelompok sitokin multifungsi yang memainkan peran penting dalam regulasi berbagai proses biologis, termasuk proliferasi, diferensiasi, migrasi sel, dan homeostasis jaringan. TGF- β terdiri dari tiga isoform utama, yaitu TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3, yang semuanya memiliki peran unik namun saling melengkapi dalam menjaga keseimbangan fisiologis tubuh.^{25,26} Dalam bentuk tidak aktif, TGF- β berikatan dengan protein matriks ekstraseluler seperti Latent TGF- β Binding Protein (LTBP), yang membantu menjaga keberadaan dan penyimpanan TGF- β di jaringan.²⁷

Aktivasi TGF- β memerlukan pelepasan dari kompleks latennya melalui protease seperti plasmin, integrin, atau enzim metalloproteinase matriks (MMPs), yang memungkinkan ligan ini mengikat reseptor spesifik, TGF- β Receptor I dan II (TGF- β RI dan TGF- β RII).²⁸

2.2.2 Peran TGF- β dalam Inflamasi dan Penyembuhan Luka

TGF- β memiliki peran dualistik dalam inflamasi, yang bergantung pada konteks jaringan dan jenis sel yang terlibat. Sebagai sitokin imunomodulator, TGF- β dapat menekan respons inflamasi berlebihan dengan menghambat aktivasi dan proliferasi limfosit T efektor, serta mendukung pengembangan sel T regulator (Tregs), yang penting untuk menjaga toleransi imun.²⁹ Namun, pada saat yang sama, TGF- β juga dapat memperkuat inflamasi dalam keadaan tertentu dengan mendorong diferensiasi sel T helper 17 (Th17), yang berkontribusi pada produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-17 dan IL-22.²⁸

TGF- β memiliki peran sentral dalam fase regenerasi dan remodeling jaringan. Melalui aktivasi jalur pensinyalan TGF- β /Smad, sitokin ini mendorong proliferasi fibroblas, meningkatkan sintesis kolagen tipe I dan III, serta mempromosikan ekspresi protein matriks ekstraseluler lainnya, seperti fibronectin dan laminin.^{20,25} Proses ini penting untuk membentuk jaringan baru yang stabil dan memperbaiki kerusakan pada lapisan dermis dan epidermis. Selain itu, TGF- β juga menginduksi migrasi keratinosit ke area luka untuk mempercepat pembentukan lapisan epidermis yang baru.²⁷

2.3 Xerosis cutis

2.3.1 Definisi

Xerosis cutis adalah kondisi kulit kering yang ditandai dengan hilangnya kelembapan alami, menyebabkan kulit menjadi kasar, bersisik, atau pecah-pecah. Istilah ini berasal dari kata Yunani "*xero*" yang berarti kering. *Xerosis cutis* dapat dipicu oleh faktor lingkungan, produk perawatan kulit yang keras, atau kondisi medis seperti dermatitis atopik, dan biasanya ditangani dengan pelembap dan emolien untuk memulihkan fungsi kulit.¹ *Xerosis cutis* ditandai dengan kulit yang kering, kasar, dan bersisik akibat hilangnya kelembapan alami. Kondisi ini dapat dipicu oleh faktor seperti penuaan, paparan lingkungan kering, atau kebiasaan yang mengurangi minyak alami kulit. Sebagai masalah kulit yang umum, *xerosis cutis* sering kali berperan sebagai gejala atau kondisi pendukung dalam berbagai gangguan kulit lainnya.³

2.3.2 Etiologi

Xerosis cutis, atau kulit kering, merupakan kondisi yang terjadi akibat gangguan keseimbangan hidrasi kulit yang disebabkan oleh berbagai faktor. Secara umum, etiologi *xerosis cutis* dapat dibagi menjadi faktor eksternal dan faktor internal, yang keduanya berkontribusi terhadap terganggunya homeostasis lipid stratum korneum, peningkatan *Trans-Epidermal Water Loss* (TEWL), serta perubahan kadar sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan yang berperan dalam regenerasi kulit.¹

Faktor eksternal, yang menjadi fokus dalam penelitian ini, meliputi paparan lingkungan seperti cuaca dingin, kelembapan rendah, dan sinar matahari berlebih, yang dapat menyebabkan penguapan air dari epidermis secara berlebihan. Selain itu, paparan bahan iritan seperti deterjen, alkohol, dan bahan kimia industri dapat mengganggu integritas *skin barrier* dengan melarutkan lipid esensial yang berperan dalam mempertahankan kelembapan kulit. Kebiasaan sehari-hari seperti mandi terlalu lama dengan air panas serta penggunaan sabun dengan pH tinggi juga dapat mempercepat degradasi lipid stratum korneum, sehingga meningkatkan risiko terjadinya *xerosis cutis*.^{1,10} *Xerosis cutis* diinduksi menggunakan aseton 70% dan etanol dengan perbandingan 1:1, yang bertindak sebagai agen defatting dan secara selektif menghilangkan lipid alami kulit.³⁰ Proses ini menyebabkan peningkatan TEWL, hilangnya fleksibilitas stratum korneum, serta aktivasi jalur inflamasi yang ditandai dengan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS).³¹ Akumulasi ROS menyebabkan stres oksidatif yang mengaktifasi *Nuclear Factor-kappa B* (NF- κ B), yang pada akhirnya meningkatkan ekspresi TNF- α , sitokin proinflamasi yang memperburuk kerusakan jaringan kulit. Peningkatan kadar TNF- α ini juga diikuti dengan penurunan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), faktor pertumbuhan yang berperan dalam regenerasi kulit dan sintesis kolagen. Dengan menurunnya kadar TGF- β , proses pemulihan *skin barrier* menjadi

terhambat, sehingga *xerosis cutis* semakin sulit diperbaiki tanpa intervensi yang tepat.³

Aseton dan etanol merupakan salah satu pelarut organik yang paling umum digunakan dalam induksi *xerosis cutis* secara eksperimental karena sifatnya yang kuat dalam melarutkan lipid. Aseton dan etanol bekerja dengan cara menghilangkan lipid epidermal, terutama yang terdapat pada stratum korneum, yaitu lapisan terluar kulit yang berperan penting sebagai barrier fisiologis. Stratum korneum terdiri dari korneosit dan matriks lipid antar sel yang menjaga keseimbangan hidrasi kulit serta melindungi dari agresi lingkungan seperti mikroorganisme dan zat iritatif. Ketika kulit terpapar etanol dan aseton, terutama pada konsentrasi tinggi seperti 70%, pelarut ini melarutkan lemak permukaan kulit secara agresif dan mengganggu komponen lipid seperti *ceramide*, kolesterol, dan asam lemak bebas yang penting dalam mempertahankan kohesi antar sel serta kemampuan retensi air kulit. Akibatnya, terjadi peningkatan *transepidermal water loss* (TEWL) atau kehilangan air yang berlebihan melalui epidermis, yang menyebabkan kulit menjadi dehidrasi, kehilangan elastisitas, dan mengalami kerusakan struktural.³²

Kerusakan lapisan pelindung kulit ini kemudian memicu aktivasi respon imun dan inflamasi lokal sebagai mekanisme pertahanan tubuh, yang ditandai dengan pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α serta gangguan regulasi sitokin antiinflamasi dan reparatif seperti TGF- β .

Kondisi ini dalam jangka pendek menimbulkan gejala klinis khas *xerosis cutis* seperti kulit kasar, bersisik, pecah-pecah, rasa tertarik, hingga gatal. Untuk membuat model *xerosis cutis* derajat II pada tikus Wistar, prosedur standar yang digunakan adalah dengan mencukur bulu pada area punggung tikus, kemudian mengoleskan aseton 70% dan etanol secara topikal sebanyak dua kali sehari selama lima hingga tujuh hari.^{9,30} Lama dan frekuensi aplikasi ini disesuaikan untuk menghasilkan gambaran kulit kering yang cukup berat namun tidak menyebabkan luka terbuka, sehingga dapat menyerupai kondisi *xerosis* klinis pada manusia. Model ini sangat berguna dalam penelitian karena mampu meniru gangguan kulit akibat faktor eksternal dalam kehidupan sehari-hari, serta memungkinkan peneliti mengevaluasi efektivitas agen terapi topikal, seperti krim ekstrak mentimun, dalam memperbaiki struktur kulit dan menurunkan kadar biomarker inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{TGF-}\beta$.³³

Di sisi lain, faktor internal juga dapat berperan dalam patogenesis *xerosis cutis*, meskipun tidak menjadi bagian dari fokus dalam penelitian ini. Faktor internal yang berkontribusi terhadap *xerosis cutis* meliputi penyakit sistemik seperti diabetes, gangguan tiroid, dan gagal ginjal, yang dapat mengganggu metabolisme lipid dan keseimbangan hidrasi kulit. Gangguan dermatologis seperti dermatitis atopik dan psoriasis juga berperan dalam meningkatkan inflamasi kronis yang dapat mempercepat degradasi lipid dan protein struktural kulit. Selain itu, perubahan hormon, kekurangan nutrisi penting, dehidrasi, serta efek samping obat-obatan

seperti diuretik dan retinoid dapat memperburuk kondisi *xerosis cutis*. Interaksi berbagai faktor ini menyebabkan kerusakan *skin barrier* yang lebih kompleks, yang sering kali membutuhkan perawatan medis yang lebih intensif.³⁴

2.3.3 Epidemiologi

Xerosis cutis dapat terjadi sebagai kondisi tunggal atau bersamaan dengan masalah kulit lain, seperti dermatitis atopik dan dermatitis kontak iritan. Kondisi ini juga sering ditemukan pada individu yang memiliki riwayat keluarga dengan kulit kering. Walaupun prevalensi pastinya belum diketahui, *xerosis cutis* merupakan masalah kulit yang cukup umum dan dapat dialami oleh semua kelompok usia, baik pria maupun wanita. Studi menunjukkan bahwa *xerosis cutis* lebih sering dialami oleh lansia, terutama mereka yang berusia 60 tahun ke atas. Selain itu, kondisi ini juga sering terkait dengan penyakit medis tertentu, seperti diabetes, gagal ginjal, atau hipotiroidisme, serta dapat dipicu oleh penggunaan obat-obatan tertentu.^{1,2}

2.3.4 Patofisiologi

Xerosis cutis merupakan kondisi patologis kulit kering yang terjadi akibat gangguan fungsi sawar kulit, yang utamanya melibatkan defisiensi filaggrin dan peningkatan *transepidermal water loss* (TEWL). Dalam kondisi normal, filaggrin yang dihasilkan dari profilaggrin pada keratinosit di stratum granulosum memainkan peran penting dalam

membentuk *natural moisturizing factor* (NMF). NMF, yang terdiri dari asam amino higroskopis seperti asam urokanat dan asam pirrolidon karboksilat, bertanggung jawab dalam retensi air di stratum korneum, menjaga kadar hidrasi kulit sekitar 10–20%.³⁵ Selain itu, lipid antar sel yang terdiri dari ceramide, kolesterol, dan asam lemak bebas membentuk bilayer lamelar yang mencegah penguapan air dan menjaga integritas sawar kulit. Aquaporin-3 (AQP3), protein saluran air, juga membantu mendistribusikan air dan gliserol dalam epidermis, meningkatkan hidrasi dan elastisitas kulit.³⁶

Peningkatan ekspresi TNF- α pada kondisi *xerosis cutis* memainkan peran penting dalam memperburuk kerusakan sawar kulit. TNF- α , yang dikenal sebagai sitokin pro-inflamasi utama, memicu pelepasan sitokin lainnya seperti IL-1 β dan IL-6, yang memperkuat respon inflamasi dan mempercepat degradasi struktur epidermis. TNF- α juga menekan ekspresi filaggrin, loricrin, dan involucrin, yang merupakan protein kunci dalam pembentukan sawar kulit, sehingga mengurangi kemampuan kulit untuk mempertahankan kelembapan dan meningkatkan TEWL.^{20,37,38} Akibatnya, TEWL meningkat, mempercepat kehilangan air dari kulit dan memperburuk hidrasi kulit.³⁹ Selain itu, penurunan aktivitas AQP3 menghambat distribusi air dan gliserol, sehingga elastisitas kulit berkurang.

Dehidrasi kronis menyebabkan korneosit menjadi rapuh, kaku, dan tidak tersusun dengan baik, yang memperburuk kerusakan fisik sawar kulit. Perubahan ini juga mempermudah penetrasi alergen dan iritasi, yang dapat memicu inflamasi dan infeksi sekunder, terutama oleh mikroorganisme seperti *Staphylococcus aureus*. Kondisi ini diperburuk oleh pH kulit yang terlalu tinggi, yang mengakibatkan degradasi lipid sawar dan penurunan pertahanan kulit terhadap infeksi mikroba. Faktor lingkungan, seperti udara kering dan suhu ekstrem, serta diet yang tidak memadai dalam mendukung produksi lipid kulit, juga.⁴⁰

Lapisan terluar kulit, atau stratum korneum, terdiri dari korneosit (sel mati yang tidak memiliki nukleus) yang terorganisasi dalam model *brick and mortar*, di mana korneosit bertindak sebagai "batu bata" dan lipid antar sel sebagai "mortar". Lapisan ini diperkuat oleh hydrolipid film di permukaan kulit, yang terdiri dari lipid, keringat, dan residu keratinosit yang berfungsi menjaga pH kulit antara 4.0–6.5. Interaksi antara korneosit, lipid antar sel, dan hydrolipid film membentuk sawar fisik dan kimia yang melindungi kulit dari iritasi, alergen, dan mikroorganisme patogen, serta mencegah kehilangan air melalui *transepidermal water loss* (TEWL).¹¹

Transforming Growth Factor-β (TGF-β) memiliki peran protektif dalam menjaga homeostasis kulit dan mendukung regenerasi jaringan. TGF-β mendukung diferensiasi keratinosit dan meningkatkan sintesis

protein struktural seperti filaggrin, loricrin, dan involucrin. Pada kondisi *xerosis cutis*, kadar TGF- β yang rendah menghambat proses ini, sehingga memperpanjang kerusakan sawar kulit dan meningkatkan TEWL.^{29,41}

TGF- β juga berperan dalam penyembuhan luka dan remodeling jaringan dengan mengaktifkan fibroblas untuk menghasilkan kolagen tipe I dan III, yang diperlukan untuk memperbaiki matriks ekstraseluler.⁴² Namun, defisiensi TGF- β pada *xerosis cutis* menghambat proses ini, sehingga kulit kehilangan elastisitas dan kemampuan regenerasi. Sebaliknya, aktivitas TGF- β yang berlebihan dapat memicu fibrosis kulit dengan menyebabkan akumulasi kolagen yang berlebihan, yang mengurangi elastisitas kulit dan memperburuk gejala *xerosis cutis*.

Defisiensi filaggrin menyebabkan penurunan NMF pada kondisi *xerosis cutis*, mengurangi kemampuan kulit untuk mengikat air. Hal ini diperparah oleh kerusakan lipid antar sel, sehingga TEWL meningkat secara signifikan. Akibatnya, kulit kehilangan kelembapan, menjadi kering, dan rentan terhadap iritasi serta infeksi. TEWL yang meningkat juga menyebabkan korneosit kehilangan struktur dan elastisitasnya, memperburuk kerusakan sawar kulit. Selain itu, penurunan aktivitas AQP3 membatasi distribusi air dan gliserol, yang semakin memperparah dehidrasi kulit. Ketidakseimbangan ini tidak hanya berdampak pada fungsi hidrasi kulit, tetapi juga berkaitan dengan proses inflamasi yang diperantarai oleh TNF- α dan TGF- β . TEWL yang meningkat dapat

memicu peningkatan ekspresi TNF- α , yang berperan dalam respons inflamasi dan memperparah kondisi *xerosis cutis* dengan menghambat regenerasi jaringan. Sebaliknya, defisiensi TGF- β akibat inflamasi kronis dapat mengurangi produksi faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk pemulihan sawar kulit. Dengan rusaknya sawar kulit, alergen dan iritasi lebih mudah masuk, memicu inflamasi berkepanjangan yang semakin menekan ekspresi TGF- β , menciptakan lingkaran setan yang memperburuk kondisi *xerosis cutis*. Seiring waktu, ketidakseimbangan ini menyebabkan penurunan kemampuan kulit dalam memperbaiki diri, memperpanjang inflamasi, dan meningkatkan risiko komplikasi seperti infeksi mikroba serta penebalan epidermis kompensatoris akibat stres inflamasi yang berkelanjutan⁴³⁻⁴⁵

Ketidakseimbangan antara TNF- α yang meningkat dan TGF- β yang menurun menjadi salah satu faktor utama dalam patofisiologi *xerosis cutis*. TNF- α yang berlebih menekan aktivitas TGF- β , sehingga regenerasi epidermis terganggu dan inflamasi kronis terus berlangsung. Sebaliknya, penurunan TGF- β mengurangi kemampuan kulit untuk memperbaiki kerusakan sawar, yang meningkatkan kerentanan terhadap iritasi dan infeksi mikroba.^{20,41}

Kondisi ini menunjukkan bahwa sawar kulit yang sehat tidak hanya bergantung pada integritas lipid antar sel dan filaggrin, tetapi juga pada keseimbangan elemen-elemen lain seperti hydrolipid film, pH kulit,

dan aktivitas AQP3. Gangguan pada salah satu komponen ini dapat menciptakan lingkaran setan yang memperparah dehidrasi kulit dan mengurangi fungsi protektif sawar kulit, sehingga strategi perawatan *xerosis cutis* harus berfokus pada pemulihan sawar kulit secara menyeluruh.^{35,44,46}

Selain ketidakseimbangan kadar TNF- α dan TGF- β yang berperan dalam inflamasi dan regenerasi jaringan, *xerosis cutis* akibat faktor eksternal memiliki patomekanisme khas yang berpusat pada gangguan sawar kulit, peningkatan TEWL, aktivasi ROS, serta disregulasi NF- κ B. Pada studi ini, *xerosis cutis* diinduksi menggunakan aseton 70% dan etanol dengan perbandingan 1:1, yang bekerja dengan cara melarutkan lipid antar sel pada stratum korneum, termasuk ceramide, kolesterol, dan asam lemak bebas, yang membentuk bilayer lamelar dalam mencegah TEWL.³¹ Hilangnya lipid ini menyebabkan peningkatan permeabilitas sawar kulit, peningkatan laju TEWL, serta penurunan hidrasi dan elastisitas kulit, sehingga mempercepat dehidrasi epidermis.⁹

Penghancuran sawar lipid akibat paparan aseton dan etanol juga menginduksi stres oksidatif, yang mengarah pada peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam epidermis. Akumulasi ROS ini mengaktifasi jalur *Nuclear Factor-kappa B* (NF- κ B), yang memicu ekspresi TNF- α dan IL-6, dua sitokin proinflamasi yang memperparah

inflamasi dan memperlambat regenerasi epidermis.^{9,30,47} Peningkatan kadar TNF- α lebih lanjut menekan ekspresi TGF- β , yang berperan dalam penyembuhan jaringan dan diferensiasi keratinosit melalui aktivasi Smad2/3. Rendahnya TGF- β menyebabkan gangguan *remodeling* jaringan, ditandai dengan penurunan ekspresi FN1, serta ketidakseimbangan ekspresi MMP2, MMP9, TIMP1, dan TIMP3, sehingga pemulihan sawar kulit menjadi lebih lambat.^{25,27}

Kondisi ini menunjukkan bahwa *xerosis cutis* akibat faktor eksternal tidak hanya disebabkan oleh hilangnya kelembapan kulit, tetapi juga oleh reaksi inflamasi yang menghambat proses perbaikan jaringan. Oleh karena itu, terapi yang ditujukan untuk mengatasi *xerosis cutis* akibat faktor eksternal perlu tidak hanya menggantikan kehilangan lipid dan mengurangi TEWL, tetapi juga menekan inflamasi (TNF- α) dan meningkatkan regenerasi epidermis (TGF- β) untuk mempercepat pemulihan sawar kulit. Dalam penelitian ini, krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) diperkirakan memiliki potensi untuk mengurangi dampak negatif dari stres oksidatif dan inflamasi dengan kandungan flavonoid sebagai antioksidan dan vitamin C sebagai kofaktor sintesis kolagen, sehingga dapat menghambat aktivasi TNF- α serta meningkatkan ekspresi TGF- β , yang pada akhirnya berkontribusi dalam pemulihan sawar kulit yang rusak akibat paparan bahan iritan eksternal.^{4,6}

2.3.5 Penilaian Kulit Kering

Penilaian kondisi kulit kering secara subjektif dilakukan menggunakan *Overall Dry Skin Score* (ODS), yang disesuaikan berdasarkan pedoman dari *European Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and other Topical Products* (EEMCO). Metode ini digunakan untuk menilai gejala mayor dan minor kulit kering pada area tertentu. Efektivitas pelembap tercermin dari penurunan skor ODS.⁴⁸

Tabel 2. 1 Penilaian Derajat *Xerosis cutis* dengan Skor *Overal Dry Skin*⁴⁸

Skor ODS	Keterangan
0	Tidak terdapat tanda kulit kering (kulit normal).
1	Sedikit sisik, kulit agak kasar, dan tampak kusam.
2	Muncul sisik kecil dan beberapa sisik besar, tekstur sedikit kasar, dan kulit tampak putih pucat.
3	Sisik kecil dan besar tersebar merata, kulit terasa jelas kasar, mungkin ada kemerahan ringan, dan beberapa retakan superfisial.
4	Sisik besar mendominasi, kekasaran kulit lebih parah, terdapat kemerahan, perubahan eczematous, dan retakan pada kulit.

Perbaikan klinis yang terjadi setelah pemberian krim ekstrak mentimun pada tikus Wistar betina dengan model *xerosis cutis* derajat II

dapat dilihat melalui beberapa parameter, terutama yang berkaitan dengan gejala klinis kulit kering. *Xerosis cutis* derajat II, yang disebabkan oleh faktor eksternal seperti paparan bahan iritan, ditandai dengan gejala kulit kering, retak, bersisik, dan gatal yang intens. Kondisi ini sering mengarah pada kerusakan penghalang kulit, yang meningkatkan *transepidermal water loss* (TEWL) dan memperburuk hidrasi kulit.^{2,10} Pemberian krim ekstrak mentimun dengan dosis 3% dan 5% pada kelompok perlakuan bertujuan untuk memperbaiki kondisi kulit ini dengan mengurangi gejala-gejala tersebut melalui mekanisme hidrasi dan antiinflamasi.

Setelah pemberian krim ekstrak mentimun, perbaikan klinis pertama yang diamati adalah peningkatan kelembapan kulit. Kandungan senyawa bioaktif dalam mentimun, seperti flavonoid, vitamin C, dan asam amino, berfungsi sebagai pelembap alami yang membantu meningkatkan hidrasi pada kulit yang kering. Ekstrak mentimun ini dapat memperbaiki penghalang kulit yang rusak dengan mengurangi TEWL dan memperbaiki integritas stratum korneum, lapisan terluar kulit yang berfungsi melindungi tubuh dari kehilangan air dan paparan patogen. Kulit tikus yang sebelumnya kering dan bersisik dapat menjadi lebih lembap dan elastis setelah perlakuan dengan krim ekstrak mentimun.^{4,5}

Perbaikan klinis yang lebih lanjut dapat dilihat dari berkurangnya gejala peradangan pada kulit. *Xerosis cutis* derajat II sering kali disertai

dengan inflamasi yang dipicu oleh peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α . Ekstrak mentimun diketahui memiliki sifat antiinflamasi yang dapat mengurangi produksi TNF- α dan sitokin inflamasi lainnya, yang pada gilirannya mengurangi rasa gatal dan iritasi pada kulit tikus. Dengan pengurangan inflamasi, regenerasi kulit juga dapat terjadi lebih efektif, mengarah pada penyembuhan luka atau retakan pada kulit yang sebelumnya terjadi akibat kekeringan ekstrem.¹

Perbaikan klinis juga dapat diukur dengan menggunakan skor penilaian *Overall Dry Skin Score* (ODS) yang digunakan untuk menilai tingkat keparahan xerosis cutis. Setelah perlakuan dengan krim ekstrak mentimun, diharapkan terjadi penurunan skor ODS yang mengindikasikan perbaikan dalam penampilan dan tekstur kulit, termasuk berkurangnya sisik, kekasaran, dan retakan pada kulit. Perbaikan ini tidak hanya menunjukkan peningkatan hidrasi tetapi juga perbaikan dalam struktur dan fungsi penghalang kulit, yang merupakan kunci dalam pemulihan kulit yang rusak akibat *xerosis cutis*.¹¹

2.4 Mentimun (*Cucumis sativus*)

Mentimun, dikenal dengan nama ilmiah *Cucumis sativus*, adalah salah satu tanaman hortikultura yang termasuk dalam keluarga Cucurbitaceae. Tanaman ini memiliki sejarah panjang sebagai salah satu tanaman yang telah dibudidayakan sejak lebih dari 3000 tahun yang lalu. Pusat domestikasi utama mentimun terletak di wilayah India, yang juga menjadi pusat keragaman genetik tanaman ini. Mentimun merupakan tanaman yang sangat populer dan

secara luas dibudidayakan baik di ladang pertanian komersial maupun di kebun rumah tangga. Secara global, mentimun digunakan tidak hanya sebagai bahan makanan segar, tetapi juga diolah menjadi acar, minuman, dan produk kosmetik. Selain itu, mentimun juga dikenal sebagai tanaman yang adaptif, dengan varietas yang cocok untuk berbagai iklim tropis maupun subtropis.⁴⁹

2.5 Taksonomi

Mentimun (*Cucumis sativus*) adalah tanaman merambat yang berasal dari India dan termasuk dalam keluarga Cucurbitaceae. Tanaman ini telah dibudidayakan selama lebih dari 3000 tahun dan dikenal sebagai salah satu tanaman hortikultura yang paling populer di dunia. Buah mentimun, yang terdiri dari lebih dari 95% air, banyak digunakan sebagai bahan makanan segar, acar, dan bahan baku dalam produk kosmetik. Selain itu, mentimun mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan vitamin C, yang memberikan berbagai manfaat kesehatan dan estetika. Keunikan kandungan kimia dan manfaat farmakologinya menjadikan mentimun subjek penting dalam penelitian kosmetik dan dermatologi.⁵

Taksonomi Mentimun (*Cucumis sativus*)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Clade	: <i>Angiosperms</i>
Clade	: <i>Eudicots</i>
Clade	: <i>Rosids</i>
Order	: <i>Cucurbitales</i>
Family	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genus	: <i>Cucumis</i>
Species	: <i>Cucumis sativus</i>

2.5.1 Kandungan Senyawa Kimia Mentimun

Mentimun (*Cucumis sativus*) adalah tanaman yang kaya akan senyawa bioaktif dengan berbagai manfaat farmakologis dan dermatologis, yang relevan untuk penelitian mengenai pengaruhnya terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α) dan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) pada kondisi kulit seperti *xerosis cutis*. Kandungan kimia mentimun meliputi flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan senyawa fenolik, yang memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang kuat. Flavonoid dalam mentimun, misalnya, telah terbukti mampu menghambat produksi TNF- α , sehingga membantu mengurangi peradangan yang sering terjadi pada kulit *xerosis cutis*.^{5,13}

Kandungan vitamin C pada mentimun berperan penting dalam mendukung aktivitas TGF- β , yang diketahui terlibat dalam regenerasi jaringan kulit dan pemeliharaan matriks ekstraseluler. Vitamin C bertindak sebagai kofaktor untuk sintesis kolagen, yang merupakan komponen utama dalam proses penyembuhan luka dan perbaikan sawar kulit. Dengan meningkatkan aktivitas TGF- β , mentimun membantu mempercepat regenerasi keratinosit dan memperkuat integritas stratum korneum.^{7,27}

Saponin dalam mentimun juga memberikan efek pelembap yang signifikan dengan memperkuat sawar kulit dan meningkatkan hidrasi alami. Mekanisme ini dapat menurunkan *transepidermal water loss* (TEWL), yang sering meningkat pada kondisi *xerosis cutis* akibat kerusakan lipid antar sel.⁵⁰

Penurunan TEWL yang diinduksi oleh komponen aktif mentimun, seperti flavonoid dan senyawa fenolik, tidak hanya membantu menjaga kelembapan kulit tetapi juga mengurangi stres oksidatif, yang diketahui berperan dalam peningkatan kadar TNF- α .¹³

Pulpa buah mentimun, yang mengandung air lebih dari 95%, menjadi agen hidrasi alami yang efektif. Kehadirannya membantu meningkatkan kelembapan epidermis, sekaligus menurunkan aktivitas inflamasi yang diinduksi oleh TNF- α . Efek ini semakin diperkuat oleh β -karoten dalam mentimun, yang memiliki sifat regeneratif untuk memperbaiki jaringan kulit yang rusak dan mendukung aktivitas TGF- β .⁶ Selain itu, senyawa antimikroba seperti terpenoid pada mentimun melindungi kulit dari infeksi sekunder yang sering terjadi akibat kerusakan sawar kulit pada kondisi *xerosis cutis*. Perlindungan ini penting dalam mengurangi risiko inflamasi yang lebih lanjut dan memastikan lingkungan yang mendukung regenerasi jaringan.⁶

2.5.2 Ekstraksi Mentimun

Ekstraksi senyawa bioaktif dari mentimun, terutama untuk formulasi krim, dilakukan untuk memastikan konsentrasi optimal komponen aktif yang mendukung hidrasi kulit dan perbaikan barrier epidermis. Proses ini melibatkan pengeringan biji mentimun yang telah dipisahkan dari buahnya, diikuti oleh penggilingan hingga menjadi bubuk halus. Ekstraksi menggunakan pelarut seperti etanol atau aseton dengan metode soklet pada suhu optimal memastikan hasil ekstraksi yang maksimal.⁵¹

Minyak biji mentimun hasil ekstraksi mengandung senyawa seperti saponin, terpenoid, fitosterol, dan flavonoid, yang berperan dalam menjaga kelembapan kulit dan mengurangi TEWL. Kandungan asam lemak tak jenuh, termasuk asam linoleat, mendukung pemulihan barrier kulit yang rusak akibat *xerosis cutis* derajat II. Tokoferol (vitamin E) yang terkandung dalam minyak ini berfungsi sebagai antioksidan untuk melindungi kulit dari kerusakan lebih lanjut, sementara fitosterol memberikan efek regeneratif dengan meningkatkan produksi filaggrin, protein kunci dalam pembentukan barrier epidermis.^{7,51}

Kehadiran β -karoten dalam mentimun memberikan manfaat tambahan berupa perbaikan jaringan kulit yang rusak dengan mendukung proses penyembuhan alami melalui stimulasi produksi kolagen dan regenerasi seluler. Selain itu, kandungan antioksidan dan antiinflamasi dalam mentimun dapat membantu menekan ekspresi TNF- α , sehingga mengurangi peradangan kronis yang berkontribusi pada gangguan sawar kulit. Di sisi lain, kemampuan senyawa bioaktif mentimun dalam mendukung sintesis TGF- β berperan dalam mempercepat perbaikan jaringan dan meningkatkan elastisitas kulit. Dengan mekanisme ini, krim ekstrak mentimun memiliki potensi besar untuk membantu menyeimbangkan ekspresi TNF- α dan TGF- β , yang merupakan faktor kunci dalam pemulihan sawar kulit. Formulasi berbasis ekstrak mentimun menawarkan pendekatan alami dan efektif untuk menangani kondisi *xerosis cutis* derajat II, dengan mengoptimalkan hidrasi

kulit, memperbaiki regenerasi jaringan, dan mengurangi inflamasi secara simultan.⁷

2.6 Sediaan Krim

Krim adalah sediaan semi-padat yang mengandung satu atau lebih bahan aktif yang terlarut dalam bahan dasar yang sesuai. Secara tradisional, istilah ini merujuk pada sediaan semi-padat dengan konsistensi yang relatif lembut, diformulasikan sebagai emulsi minyak dalam air atau air dalam minyak. Krim memiliki kandungan air tidak kurang dari 60% dan dirancang untuk penggunaan luar. Krim yang berkualitas memiliki sejumlah karakteristik, seperti tekstur yang halus, mudah diaplikasikan, mudah dibersihkan dengan air, tidak memiliki bau tengik, bebas dari mikroba patogen, tidak menyebabkan iritasi kulit, dan tidak mengandung pewarna atau bahan tambahan yang dilarang oleh peraturan. Selain itu, jika mengandung bahan aktif, krim harus mampu melepaskan bahan aktifnya secara efektif dan memiliki stabilitas yang baik.^{52,53}

2.6.1 Keunggulan Sediaan Krim

Keuntungan dari sediaan krim antara lain kemudahan penggunaan karena konsistensinya yang semi-padat sehingga nyaman diaplikasikan dan mudah menyebar merata tanpa meninggalkan residu lengket; cepat meresap ke lapisan kulit sehingga bahan aktif dapat bekerja efektif dalam waktu singkat; kemampuan melekat yang baik pada kulit sehingga bahan aktif tetap bekerja dalam durasi tertentu tanpa mudah terhapus; kemudahan dibersihkan dengan air sehingga nyaman untuk rutinitas perawatan kulit; stabilitas fisik

yang baik yang menjaga warna, bau, dan konsistensi selama penyimpanan; kompatibilitas kulit dengan pH yang sesuai (4,5–6,5) sehingga tidak menimbulkan iritasi terutama pada kulit sensitif; serta fleksibilitas formulasi yang memungkinkan krim digunakan untuk berbagai tujuan seperti pelembap, tabir surya, antioksidan, atau aplikasi medis lainnya dengan penambahan bahan aktif yang sesuai.^{52,54,55}

2.6.2 Komponen Krim

Krim diformulasikan dengan tiga komponen utama untuk menjaga kesehatan dan hidrasi kulit: humektan, emolien, dan oklusif. Humektan seperti gliserin atau propilen glikol berperan menarik dan mempertahankan kelembapan dari lingkungan atau lapisan kulit dalam. Emolien, seperti minyak atau lilin, melembutkan kulit dengan mengisi celah antar sel kulit, sementara oklusif, seperti paraffin liquidum atau dimethicone, menciptakan lapisan pelindung yang mencegah kehilangan air transepidermal (TEWL).^{56,57}

Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) berpotensi mendukung hidrasi kulit berkat kandungan senyawa bioaktif seperti vitamin C, flavonoid, dan polifenol yang dikenal memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, serta kemampuan melembapkan secara alami. Kandungan air yang tinggi pada mentimun juga berkontribusi dalam menjaga kelembapan kulit.⁶

Penelitian basis krim yang digunakan mencakup *cetyl alcohol*, *sorbitol*, *paraffin liquidum*, dan *dimethicone*, yang masing-masing berperan sebagai

humektan, emolien, dan oklusif. Penambahan ekstrak mentimun ke dalam formulasi tersebut tidak hanya meningkatkan kemampuan hidrasi, tetapi juga memberikan manfaat tambahan berupa perlindungan antioksidan dan pengurangan inflamasi. Hal ini menjadikan formulasi ini efektif untuk memperbaiki kondisi kulit kering, seperti yang terlihat pada model *xerosis cutis* II.⁵⁶

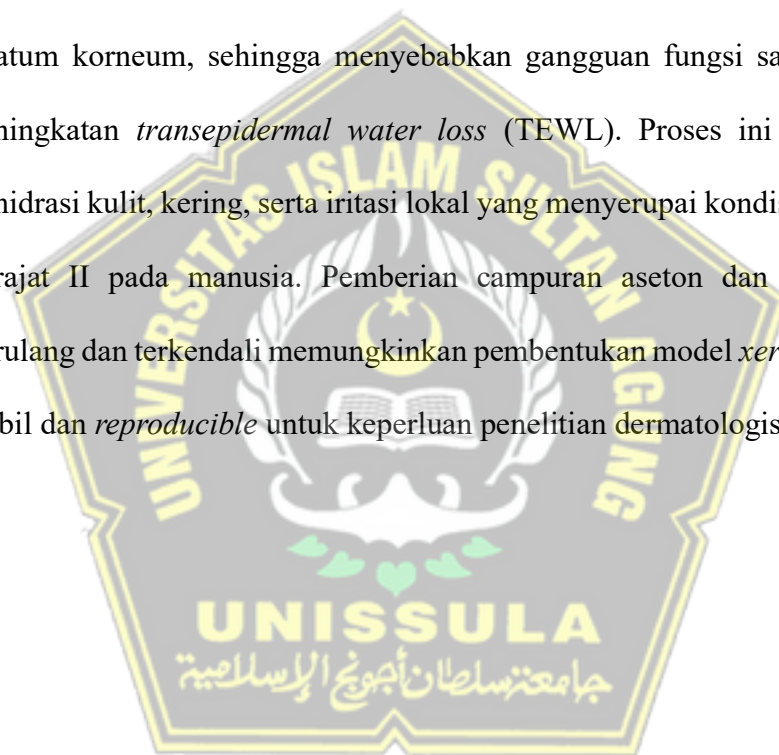
2.7 Model Hewan Uji

Tikus betina galur Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu model hewan laboratorium yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis, termasuk dalam studi dermatologi dan inflamasi kulit.⁵⁸ Pemilihan tikus betina dalam penelitian ini didasarkan pada beberapa faktor penting yang berkaitan dengan tujuan penelitian, yaitu mengevaluasi pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar sitokin inflamasi TNF- α dan TGF- β pada kondisi *xerosis cutis* derajat II. Tikus Wistar memiliki keunggulan dalam hal ukuran tubuh yang relatif besar dibandingkan strain tikus laboratorium lainnya, serta memiliki respons imun yang stabil terhadap berbagai kondisi eksperimental, sehingga memudahkan analisis data dalam penelitian berbasis inflamasi kulit.⁵⁹

Tikus betina dipilih karena perbedaan fisiologis dan hormonal yang dapat memengaruhi respons terhadap intervensi topikal. Studi menunjukkan bahwa kadar estrogen yang lebih tinggi pada tikus betina dapat berperan dalam

regulasi proses inflamasi serta mempercepat regenerasi jaringan kulit dibandingkan dengan tikus jantan.⁵⁹

Induksi *xerosis cutis* pada tikus dilakukan dengan pemberian campuran aseton dan etanol dalam perbandingan 1:1 yang diaplikasikan secara topikal pada area kulit yang telah dicukur dan dibersihkan.³⁰ Campuran ini berfungsi sebagai agen ekstrinsik yang mampu menghilangkan lipid pelindung pada stratum korneum, sehingga menyebabkan gangguan fungsi sawar kulit dan peningkatan *transepidermal water loss* (TEWL). Proses ini menimbulkan dehidrasi kulit, kering, serta iritasi lokal yang menyerupai kondisi *xerosis cutis* derajat II pada manusia. Pemberian campuran aseton dan etanol secara berulang dan terkendali memungkinkan pembentukan model *xerosis cutis* yang stabil dan *reproducible* untuk keperluan penelitian dermatologis.^{9,30}



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Xerosis cutis merupakan kondisi kulit kering kronis yang ditandai oleh gangguan sawar kulit, menyebabkan peningkatan *transepidermal water loss* (TEWL), aktivasi *reactive oxygen species* (ROS), inflamasi kronis, serta ketidakseimbangan antara mediator inflamasi seperti TNF- α dan faktor pertumbuhan seperti TGF- β . Faktor ekstrinsik berupa paparan bahan kimia aseton dan etanol (perbandingan 1:1) berperan dalam menghilangkan lipid pada lapisan epidermis sehingga melemahkan struktur sawar kulit. Akibatnya, terjadi peningkatan TEWL yang menyebabkan dehidrasi jaringan kulit dan menimbulkan kondisi *xerosis cutis* derajat II.³²

Peningkatan TEWL dan kerusakan sawar kulit memicu aktivasi ROS yang menyebabkan stres oksidatif. ROS mengaktifkan jalur transduksi sinyal NF- κ B yang merupakan regulator utama inflamasi dan degradasi matriks ekstraseluler. Aktivasi NF- κ B meningkatkan ekspresi sitokin inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α . TNF- α menjadi mediator kunci dalam proses inflamasi *xerosis cutis* yang memperkuat respon inflamasi melalui IL-6 serta menghambat regenerasi kulit dengan menurunkan kadar TGF- β .³

TGF- β berfungsi sebagai faktor protektif yang berperan dalam diferensiasi keratinosit, sintesis protein matriks seperti kolagen tipe I (COL1A1) dan tipe III (COL3A1), serta mengatur keseimbangan enzim

remodel matriks (MMP2, MMP9) dan inhibitornya (TIMP1, TIMP3). Ketidakseimbangan antara peningkatan TNF- α dan penurunan TGF- β mengakibatkan gangguan remodeling jaringan, perlambatan proses regenerasi epidermis, dan melemahnya sawar kulit sehingga memperburuk kondisi *xerosis cutis*.²⁷

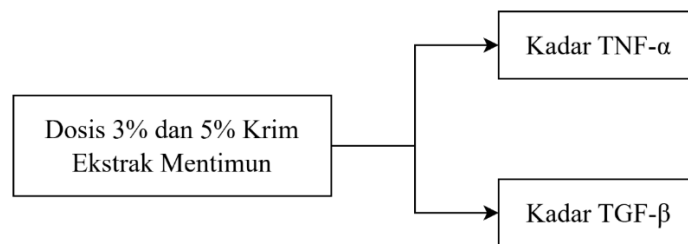
Ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) sebagai agen terapeutik alami memiliki potensi memodulasi kadar TNF- α dan TGF- β sehingga mampu mengurangi inflamasi dan mempercepat regenerasi kulit. Kandungan polisakarida, flavonoid, vitamin C, mineral, asam amino, dan antioksidan dalam ekstrak mentimun telah terbukti mengaktifkan faktor transkripsi Nrf2 yang menginduksi ekspresi enzim antioksidan utama seperti *superoxide dismutase 1* (SOD1), katalase (CAT), dan *glutathione peroksidase* (GPX). Aktivasi jalur Nrf2 ini menurunkan kadar ROS, yang selanjutnya menghambat aktivasi NF- κ B sehingga menekan ekspresi TNF- α dan IL-6, mengurangi inflamasi pada jaringan kulit.¹⁹

Ekstrak mentimun juga meningkatkan ekspresi TGF- β melalui aktivasi jalur Smad2/3 yang berperan dalam meningkatkan ekspresi fibronectin 1 (FN1) serta menyeimbangkan ekspresi MMP2, MMP9, TIMP1, dan TIMP3. Mekanisme ini mendukung proses remodeling jaringan dan regenerasi epidermis, berkontribusi pada perbaikan sawar kulit, peningkatan hidrasi, dan percepatan pemulihan struktur epidermis yang rusak akibat paparan faktor ekstrinsik.¹⁶

Penelitian ini menggunakan aplikasi krim ekstrak mentimun dengan konsentrasi 3% dan 5% untuk menekan kadar TNF- α dan meningkatkan kadar TGF- β pada model xerosis cutis derajat II yang diinduksi paparan aseton dan etanol. Penurunan TNF- α diharapkan mereduksi inflamasi, sementara peningkatan TGF- β berfungsi mempercepat regenerasi epidermis dan memperkuat sawar kulit. Kombinasi efek ini diharapkan dapat mengurangi gejala *xerosis cutis*, meningkatkan hidrasi kulit, dan memperbaiki sawar epidermis yang terganggu akibat paparan bahan kimia ekstrinsik.



3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada tikus betina galur wistar dengan model *xerosis cutis* derajat II.

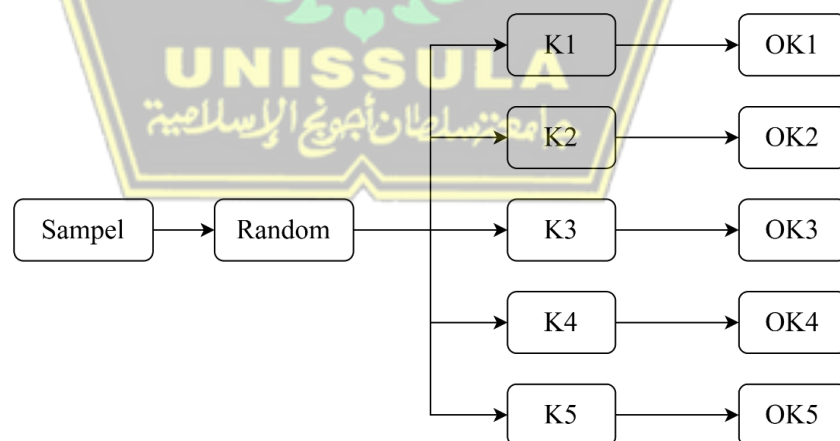


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* yang menggunakan metode *Post Test Only Control Group Design* dengan model tikus Wistar betina yang diinduksi *xerosis cutis* derajat II.⁶⁰ Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan akan diberikan krim berbahan dasar ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*), sementara kelompok kontrol tidak akan diberikan perlakuan khusus. Setelah perlakuan, setiap kelompok akan diobservasi untuk mengukur kadar TNF- α dan TGF- β sebagai indikator inflamasi dan peningkatan regenerasi kulit.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

1. K1: Tikus normal, tidak di induksi *xerosis cutis* dan tidak diberikan perlakuan (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 diberikan ceramide 10%.
4. K4: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar diberikan krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) 3%.
5. K5: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar diberikan krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) 5%.

4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**4.2.1 Variabel Penelitian****4.2.1.1 Variabel Bebas**

Krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan dosis 3% dan 5%

4.2.1.1 Variabel Terikat

- 1) Kadar sitokin pro-inflamasi TNF- α
- 2) Kadar sitokin regenerasi dan angiogenesis TGF- β

4.3 Definisi Operasional**4.3.1 Kadar TNF- α**

Kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α) sebagai indikator inflamasi diukur menggunakan sampel jaringan kulit tikus setelah diberikan perlakuan dengan krim ekstrak mentimun. Pengukuran

dilakukan pada hari ke-15 dengan metode ELISA di Laboratorium Klinik IBL Semarang. Efektivitas krim dalam menekan inflamasi dinilai berdasarkan penurunan kadar $\text{TNF-}\alpha$ pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.

Satuan : ng/mL (nanogram/L)

Skala : Rasio

4.3.2 Kadar TGF- β

Kadar Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β), yang berperan dalam regenerasi kulit, diukur menggunakan sampel jaringan kulit tikus setelah diberikan perlakuan dengan krim ekstrak mentimun. Pengukuran dilakukan pada hari ke-15 dengan metode ELISA di Laboratorium Klinik IBL Semarang. Indikator keberhasilan perlakuan ditentukan berdasarkan peningkatan kadar TGF- β pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol, yang menunjukkan stimulasi regenerasi kulit dan perbaikan sawar kulit akibat aplikasi krim.

Satuan : ng/mL (nanogram/L)

Skala : Rasio

4.3.3 Krim Ekstrak Mentimun

Krim berbasis ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan konsentrasi 3% dan 5% diformulasikan sebagai perlakuan dalam penelitian ini. Krim ini diaplikasikan secara topikal pada kulit tikus model *xerosis cutis* derajat II selama periode penelitian (14 hari) untuk mengevaluasi efektivitasnya dalam meningkatkan hidrasi kulit, menekan inflamasi

(TNF- α), serta merangsang regenerasi kulit (TGF- β). Keberhasilan terapi dinilai berdasarkan kadar TNF- α dan TGF- β serta perbaikan kondisi kulit berdasarkan skor xerosis. Basis krim diperoleh dari PT. Derma Elok Farma dan ekstrak mentimun diperoleh dari Hyundai Bioland yang didapatkan melalui PT. Menjangan Sakti (Mensa Group).

Satuan : mg (miligram)

Skala : Ordinal

4.4 Sampel Penelitian

4.4.1 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus betina galur Wistar dengan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 200–250g, yang diperoleh dari Laboratorium Klinik IBL Semarang Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Tikus-tikus tersebut dipelihara menggunakan pakan pellet standar dan diberikan air minum berupa air putih pada suhu ruangan. Pemeliharaan dilakukan pada suhu lingkungan berkisar 28°C–32°C dengan ventilasi dan pencahayaan yang memadai. Sebelum diberikan perlakuan, tikus-tikus terlebih dahulu menjalani proses adaptasi selama 7 hari.

4.4.2 Kriteria Inklusi

1. Tikus Wistar betina yang mengalami xerosis cutis derajat II
2. Berat badan tikus 200-250 gram.
3. Tikus memenuhi persyaratan sampel penelitian dan telah menjalani masa adaptasi selama 7 hari.

4.4.3 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang menunjukkan tanda-tanda penyakit selama masa adaptasi.
2. Tikus yang menunjukkan gejala stress pada masa adaptasi di Laboratorium seperti perubahan aktivitas, perubahan pola makan, dan penurunan berat badan.

4.4.4 Kriteria Dropout

1. Tikus yang mati selama proses penelitian.
2. Tikus yang mengalami gangguan kulit, seperti luka atau infeksi sekunder, yang menghambat evaluasi.
3. Tikus yang menunjukkan tanda-tanda sakit selama masa penelitian.

4.5 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik simple *random sampling* untuk pengambilan sampel. Sebanyak 30 ekor tikus betina galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dibagi secara acak sederhana ke dalam 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor dan ditambahkan 1 ekor cadangan. Kelompok-kelompok tersebut terdiri dari 3 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan.⁶⁰

4.6 Besar Sampel

Jumlah sampel dihitung berdasarkan sampel eksperimental dari Federer.

Rumus Federer yaitu:

$$\begin{aligned}
 (n-1)(t-1) &\geq 15 \\
 (n-1)(5-1) &\geq 15 \\
 4n - 4 &\geq 15 \\
 4n &\geq 19 \\
 n &\geq 4,75
 \end{aligned}$$

$$n = 5$$

Keterangan untuk nilai t adalah banyaknya perlakuan yaitu 5 dan n adalah banyaknya sampel setiap perlakuan. Sehingga sampel yang digunakan adalah 5+1 ekor per kelompok sehingga jumlahnya adalah 30 ekor tikus.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat

Penelitian ini menggunakan kandang hewan laboratorium untuk memelihara tikus model *xerosis cutis*, lengkap dengan tempat air minum dan fasilitas kontrol lingkungan. Alat tambahan seperti spatula stainless, gelas ukur, beaker glass, hot plate stirrer, dan mortar pestle digunakan untuk persiapan bahan uji dalam formulasi krim ekstrak mentimun.

Data dikumpulkan menggunakan beberapa alat, di antaranya mikropipet (10–1000 μL) beserta tipnya untuk pengambilan sampel, centrifuge untuk pemisahan sampel, cryotube untuk penyimpanan jaringan, dan freezer bersuhu -20°C atau -80°C untuk penyimpanan jangka panjang sampel jaringan. Laminar air flow cabinet digunakan untuk menjaga sterilisasi selama proses penyiapan sampel.

Analisis data dilakukan menggunakan ELISA reader untuk mengukur kadar $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{TGF-}\beta$, serta spektrofotometer untuk analisis kuantitatif lainnya. Mikroskop cahaya digunakan untuk pemeriksaan histologi jaringan, sementara homogenizer digunakan untuk mempersiapkan jaringan sebelum analisis. Inkubator CO_2 digunakan untuk menjaga kondisi kultur jaringan selama penelitian.

4.8 Bahan

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar betina dengan berat badan 200–250g sebagai model hewan, yang diinduksi *xerosis cutis* menggunakan aseton 70% dan etanol. Bahan uji yang digunakan adalah krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) dengan konsentrasi 3% dan 5%, yang diformulasikan menggunakan basis krim kosmetik yang meliputi *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*.

Untuk analisis kadar TNF- α dan TGF- β , digunakan antibodi primer dan sekunder spesifik yang diperoleh dari kit ELISA, dengan larutan buffer seperti PBS, larutan TMB sebagai substrat reaksi warna, aquadest steril untuk larutan, pencucian plate, larutan blocking untuk mengurangi ikatan nonspesifik dan *skin analyzer* merk WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 *Endoscope Magnifier 1600x Black*. Semua bahan dirancang untuk mendukung proses penelitian mulai dari induksi *xerosis cutis* derajat II hingga analisis hasil menggunakan metode ELISA.

4.8 Cara Penelitian

4.8.1 Permohonan Ethical Clearance

Permohonan *ethical clearance* diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Persetujuan ini *ethical clearance* menjadi syarat utama sebelum penelitian dilaksanakan.

4.8.2 Persiapan Sebelum Perlakuan

- a. Hewan uji yang memenuhi kriteria inklusi akan dipilih menggunakan metode *simple random sampling*, dengan total 30 ekor tikus. Tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 5+1 ekor, yaitu 3 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan, tikus akan menjalani proses adaptasi selama 7 hari.
- b. Sebanyak 30 ekor tikus betina galur Wistar diaklimatisasi di Laboratorium Klinik IBL Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- c. Tikus dipelihara dengan pakan standar yang mengandung protein 20-25%, pati 45-55%, lemak 10-12%, dan serat kasar 4%, serta diberi air putih dalam jumlah yang sama setiap hari.

4.8.3 Pengukuran Kadar Flavonoid dan Vitamin C pada Ekstrak Mentimun

Pengukuran kadar flavonoid dan vitamin C pada ekstrak mentimun dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Untuk analisis flavonoid, sebanyak 0,5 ml ekstrak mentimun dicampur dengan larutan aluminium klorida ($AlCl_3$) dan kalium asetat (KCH_3COO).

Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar untuk memungkinkan pembentukan kompleks yang dapat dideteksi secara optik. Selanjutnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang 415 nm menggunakan spektrofotometer. Standar quersetin digunakan untuk membuat kurva standar, dan kadar flavonoid dihitung dalam satuan miligram quersetin ekuivalen (mgQE) per mililiter sampel.⁶¹

Sementara itu, untuk pengukuran kadar vitamin C, sebanyak 25 ml ekstrak mentimun ditambahkan larutan buffer dan pereaksi lainnya sesuai protokol analisis. Campuran ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu (biasanya 265 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Standar asam askorbat digunakan untuk membuat kurva standar, dan kadar vitamin C dihitung dalam satuan miligram per mililiter sampel. Proses ini memberikan hasil akurat tentang kandungan flavonoid dan vitamin C dalam ekstrak mentimun, yang berkontribusi sebagai komponen bioaktif dengan sifat antioksidan dan regeneratif.⁶¹

4.8.4 Penetapan Dosis

Dosis krim ekstrak mentimun dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan studi sebelumnya yang menunjukkan efektivitasnya dalam menjaga hidrasi kulit dan stabilitas formulasi. Penelitian terdahulu menggunakan dosis 3%¹⁷ dan 5%⁵³ dalam aplikasi topikal, dengan pH fisiologis (4,5–6,5) serta daya lekat yang baik, memungkinkan krim bertahan lebih lama di kulit dan mendukung regenerasi epidermis.

Dalam penelitian ini, krim diaplikasikan setiap hari dengan dosis 200 mg/tikus, di mana kelompok K3 (3%) menerima 6 mg ekstrak dalam 194 mg krim, sedangkan kelompok K4 (5%) menerima 10 mg ekstrak dalam 190 mg krim. Evaluasi dilakukan untuk menentukan apakah peningkatan dosis dapat memberikan manfaat tambahan dalam modulasi TNF- α dan TGF- β , yang berperan dalam inflamasi dan regenerasi kulit. Jika K4 menunjukkan hasil lebih baik dibanding K3, maka dosis 10 mg/tikus dapat direkomendasikan sebagai dosis yang lebih efektif untuk terapi *xerosis cutis*. Namun, jika tidak terdapat perbedaan signifikan atau muncul efek samping, maka 6 mg/tikus dianggap sebagai dosis optimal yang memberikan keseimbangan antara efektivitas dan keamanan.

Sebagai kontrol positif, digunakan ceramide 10%⁶², yang telah terbukti meningkatkan hidrasi kulit, memperbaiki sawar kulit, serta menurunkan TEWL. Ceramide membantu menjaga integritas *skin barrier* dengan mengisi celah antar korneosit dan mempertahankan kelembapan kulit. Dosis ini dipilih untuk membandingkan efektivitas krim ekstrak mentimun dalam modulasi TNF- α dan TGF- β dibandingkan dengan terapi standar dermatologi.⁶²

4.8.5 Formulasi Sediaan 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 yang di dapatkan dari *Raw Material Cosmetical Grade* PT. Derma Elok Farma⁶³ dan ditambahkan ekstrak mentimun yang diperoleh dari Hyundai Bioland yang didistribusikan oleh PT. Menjangan Sakti (Mensa Group) dengan presentase 3% dan 5%.⁶⁴

Tabel 4. 1 Formulasi Krim Ekstrak Mentimun

Bahan	F1	F2
<i>Basis Krim dari Raw Material Cosmetical Grade PT. Derma Elok Farma 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, Cetareth-20, Sodium Cetearyl Sulfate, BHT, Sodium Sulfite, Citric Acid, Disodium Edta, Allantoin, Hydrolyzed Jojoba Esters, Ethylhexylglycerin, Sodium Metabisulfite</i>	Ad 100% (194 mg)	Ad 100% (190 mg)
Ekstrak Mentimun	3% ¹⁷ (6 mg)	5% ⁵³ (10 mg)

4.8.6 Proses Perlakuan

a. Persiapan Hewan Uji

1. Pilih tikus betina galur Wistar dengan berat badan 200-250 gram.
2. Adaptasi tikus selama 7 hari di lingkungan laboratorium yang terkontrol (suhu 22–25°C, kelembapan 50–60%).

3. Cukur bagian kulit punggung tikus menggunakan alat cukur elektrik dengan luas 3x3 cm, pastikan tidak terjadi luka pada kulit.

b. Pembuatan Model Hewan Coba *Xerosis cutis* Derajat II

Model hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar betina dengan induksi xerosis cutis derajat II. Pemilihan model ini didasarkan pada studi pendahuluan yang menunjukkan bahwa kombinasi larutan aseton 70% dan etanol dengan perbandingan 1:1 menghasilkan gambaran kulit kering yang paling mendekati kondisi xerosis derajat II.⁶⁵ Penilaian derajat kekeringan kulit dilakukan menggunakan parameter *Overall Dry Skin (ODS)* score, yang mencakup tingkat keparahan gejala seperti kekasaran, deskuamasi (bersisik), dan adanya retakan pada permukaan kulit. Evaluasi dilakukan secara visual pada masing-masing kelompok perlakuan dengan bantuan perangkat *skin analyzer* (WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 Endoscope Magnifier 1600x, Black) untuk mendukung observasi mikroskopis permukaan kulit.

Langkah langkah perlakuan tikus model xerosis cutis derajat II sebagai berikut:

1. Rendam kapas steril dalam larutan aseton 70% dan etanol 1:1.⁶⁵
2. Oleskan kapas yang telah direndam aseton dan etanol ke permukaan kulit punggung tikus yang sudah dicukur 3x3 cm²

sebanyak 3 kali usapan dan dibiarkan meresap ke jaringan kulit hingga mengering dengan sendirinya.

3. Aplikasi dua kali sehari (pagi dan sore) selama 7 hari berturut-turut.
4. Induksi tikus hingga kulit mendapatkan skor 2 atau dengan ciri-ciri terdapat sisik kecil, beberapa sisik besar, tekstur sedikit kasar, dan kulit tampak putih pucat.

c. Observasi Perubahan Kulit

Observasi perubahan kulit dilakukan secara visual pada masing-masing kelompok perlakuan dengan bantuan *skin analyzer* (WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 *Endoscope Magnifier* 1600x, *Black*) dengan penilaian derajat kekeringan kulit dilakukan menggunakan parameter *Overall Dry Skin (ODS)* score, yang mencakup tingkat keparahan gejala seperti kekasaran, deskuamasi (bersisik), dan adanya retakan pada permukaan kulit.

Pengamatan perubahan kulit tikus setiap hari untuk mengevaluasi tanda-tanda *xerosis cutis* dengan skoring berikut:

Skor ODS	Keterangan
0	Tidak terdapat tanda kulit kering (kulit normal).
1	Sedikit sisik, kulit agak kasar, dan tampak kusam.
2	Muncul sisik kecil dan beberapa sisik besar, tekstur sedikit kasar, dan kulit tampak putih pucat.

3	Sisik kecil dan besar tersebar merata, kulit terasa jelas kasar, mungkin ada kemerahan ringan, dan beberapa retakan superfisial.
4	Sisik besar mendominasi, kekasaran kulit lebih parah, terdapat kemerahan, perubahan eczematous, dan retakan pada kulit.

Keterangan:

- Skor 0 menunjukkan tidak ada kulit kering.
- Skor 1 menunjukkan *xerosis cutis* ringan.
- Skor 2 menunjukkan *xerosis cutis* sedang
- Skor 3 menunjukkan *xerosis cutis* berat.
- Skor 4 menunjukkan *xerosis cutis* ekstrem



Gambar 4.2 Pemeriksaan *Xerosis cutis* secara Visual³

d. Pemberian Krim Ekstrak Mentimun

1. Pembagian Kelompok

Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan:

- K1: Tikus normal, tidak di induksi *xerosis cutis* cutis dan tidak diberikan perlakuan (tikus sehat).
- K2: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar dan tanpa diberikan krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*).
- K2: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar diberikan ceramide 10%.
- K4: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar diberikan krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) 3%.
- K5: Tikus Wistar betina model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar diberikan krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) 5%.

2. Pemberian Perlakuan Krim

Setelah induksi *xerosis cutis* selesai (setelah 7 hari aplikasi aseton dan etanol atau hingga sudah mencapai *xerosis cutis* derajat II), setiap kelompok perlakuan (K3, K4, K5) diberikan perlakuan krim sesuai komposisinya, Aplikasi krim dilakukan pada kulit punggung tikus yang sudah diinduksi *xerosis cutis*, kemudian diberi perlakuan selama 2 minggu (14 hari) sesuai kelompok secara berturut-turut.

- e. Pemantauan hasil visual kulit tikus dengan *skin analyzer* (WSDCAM Mikroskop Digital WS1600 *Endoscope Magnifier* 1600x, *Black*)
1. Selama periode perlakuan, pengamatan dilakukan untuk menilai perubahan visual kulit tikus dengan mikroskop digital
 2. Mikroskop digital dikalibrasi terlebih dahulu guna memastikan pencahayaan, fokus, dan pembesaran berada dalam kondisi optimal.
 3. Pembesaran disesuaikan dengan kebutuhan visualisasi struktur permukaan kulit, umumnya berkisar antara 50x hingga 200x. Selama proses pengambilan gambar, jarak antara lensa dan permukaan kulit dijaga tetap menggunakan spacer atau penyangga standar bawaan alat, sehingga konsistensi hasil citra dapat terjaga.
 4. Gambar diambil pada area dorsum punggung tikus yang telah dicukur, dengan titik pengamatan dipilih secara acak namun terdistribusi merata untuk meminimalkan bias lokasi. Setiap titik diamati dan difoto dalam kondisi pencahayaan yang konstan, tanpa bayangan tangan maupun gangguan pantulan cahaya.
 5. Seluruh gambar disimpan dalam resolusi tinggi (format JPEG atau PNG) dan diberi kode identitas sesuai kelompok, guna mempermudah proses dokumentasi dan analisis data.

4.8.7 Pemeriksaan Peningkatan Kadar TGF- β dan TNF- α

Pemeriksaan kadar TGF- β dan TNF- α dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk mengukur kadar protein yang berperan dalam proses inflamasi dan regenerasi jaringan kulit. Metode ini memberikan sensitivitas tinggi dalam mendeteksi protein target. Prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Homogenisasi Jaringan Kulit

- Jaringan kulit yang telah diambil dihancurkan menggunakan homogenizer dalam larutan buffer lisis yang mengandung PBS (Phosphate Buffered Saline) untuk mempertahankan stabilitas protein.

2. Proses Sentrifugasi

- Homogenat jaringan disentrifugasi pada kecepatan $12.000 \times g$ selama 15–20 menit pada suhu 4°C. Supernatan hasil sentrifugasi diambil untuk analisis lebih lanjut.

3. Penyiapan Plate ELISA

- Plate ELISA yang telah dilapisi antibodi primer spesifik untuk TGF- β dan TNF- α disiapkan sesuai dengan protokol kit ELISA.

4. Penambahan Sampel

- Supernatan jaringan kulit ditambahkan ke dalam sumur plate bersama dengan larutan standar untuk menghasilkan kurva standar. Volume ditentukan berdasarkan instruksi kit.

5. Proses Inkubasi

- Plate diinkubasi pada suhu yang telah ditentukan (biasanya 37°C) selama waktu tertentu untuk memastikan reaksi optimal antara antibodi dan protein target.

6. Reaksi Warna

- Tambahkan substrat enzim (seperti TMB) ke setiap sumur untuk memulai reaksi enzimatik. Intensitas warna yang dihasilkan akan sebanding dengan kadar protein yang ada dalam sampel.

7. Pengukuran Absorbansi

- Warna yang terbentuk diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm untuk mendapatkan nilai absorbansi yang akan digunakan dalam perhitungan kadar protein.

8. Pengolahan Data

- Konsentrasi TGF- β dan TNF- α dihitung dengan membandingkan nilai absorbansi sampel terhadap kurva standar yang telah dibuat.

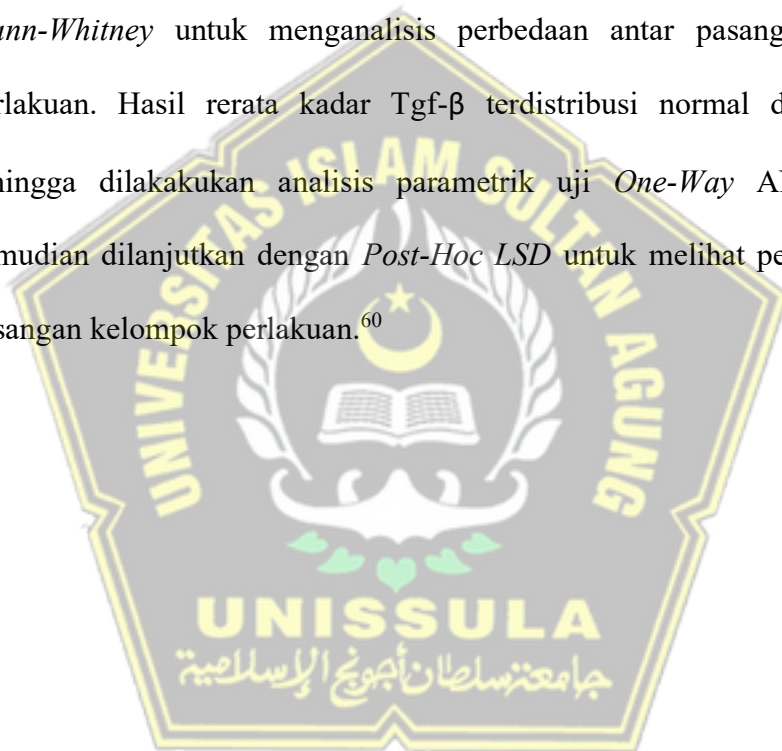
Hasil analisis digunakan untuk membandingkan perbedaan kadar protein antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

4.8.8 Tempat dan Waktu Penelitian

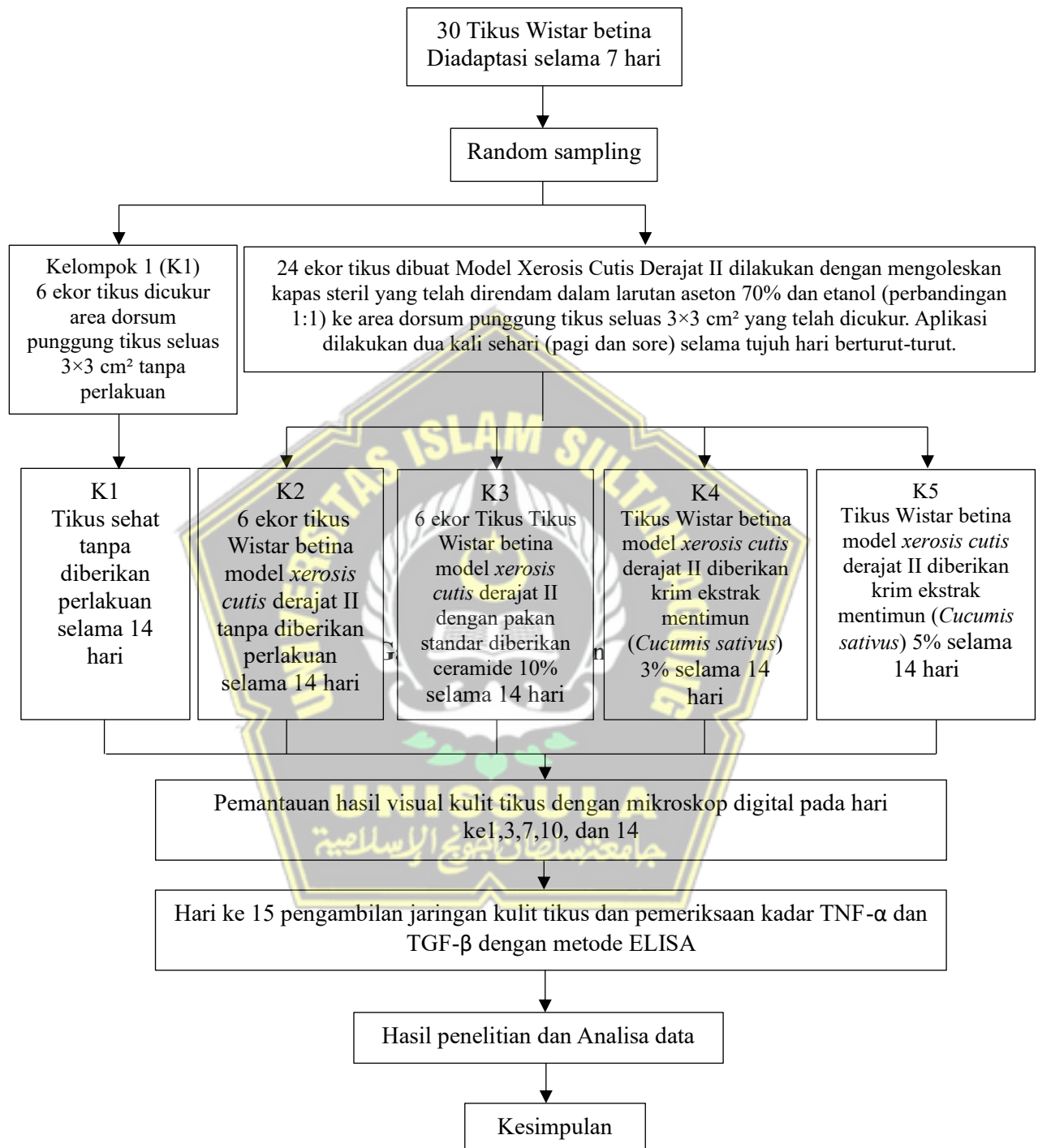
Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Klinik IBL, Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juli 2025.

4.8.9 Analisis Data

Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menentukan apakah data berdistribusi normal, serta uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* untuk memastikan kesamaan varians antar kelompok. Hasil data kadar TNF α tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, maka analisis dilakukan dengan metode *Kruskal-Wallis*, yang selanjutnya dilanjutkan dengan *Mann-Whitney* untuk menganalisis perbedaan antar pasangan kelompok perlakuan. Hasil rerata kadar Tgf- β terdistribusi normal dan homogen, sehingga dilakukan analisis parametrik uji *One-Way ANOVA*, yang kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc LSD* untuk melihat perbedaan antar pasangan kelompok perlakuan.⁶⁰



4.8.10 Alur Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vivo* yang bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap kadar sitokin TNF- α dan TGF- β pada tikus betina galur Wistar dengan model *Xerosis cutis* derajat II. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juli 2025 di Laboratorium IBL, Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sebanyak 30 ekor tikus betina galur Wistar dibagi secara acak ke dalam lima kelompok, masing-masing terdiri dari enam ekor tikus. Kelompok tersebut terdiri atas: K1 (kelompok normal), yaitu tikus sehat yang tidak diinduksi xerosis cutis dan tidak diberi perlakuan; K2 (kontrol negatif), yaitu tikus yang diinduksi xerosis cutis dan hanya diberi pakan standar; K3 (kontrol positif), yaitu tikus yang diinduksi xerosis cutis dan diberi krim ceramide 10%; serta K4 dan K5 sebagai kelompok perlakuan, yaitu tikus yang diinduksi xerosis cutis dan diberikan krim ekstrak mentimun masing-masing sebesar 3% dan 5%.

Model xerosis cutis derajat II dibuat dengan mencukur rambut pada area punggung tikus hingga seluas $3 \times 3 \text{ cm}^2$, kemudian mengoleskan kapas steril yang telah direndam dalam larutan campuran aseton 70% dan etanol (1:1) dua kali sehari selama tujuh hari berturut-turut. Induksi dilakukan hingga kulit menunjukkan skor xerosis derajat II (skor 2) berdasarkan skala *Overall Dry Skin (ODS)*, yaitu dengan munculnya sisik kecil dan beberapa sisik besar, tekstur kulit yang sedikit kasar, dan tampilan kulit yang tampak putih pucat. Setelah model berhasil dibuat, perlakuan

krim topikal diberikan sesuai kelompok masing-masing selama 14 hari berturut-turut. Pada hari ke-15, dilakukan pengambilan jaringan kulit dari masing-masing tikus untuk dianalisis kadar TNF- α dan TGF- β menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.

5.1.1 Hasil Analisis kandungan ekstrak mentimun, Validasi dan Penagamatan Makroskopis Tikus Model Xerosis Cutis Derajat II Setelah perlakuan tiap kelompok

Hasil analisis kandungan flavonoid total dalam ekstrak mentimun menunjukkan hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi quercetin standar dan nilai absorbansi yang diukur. Pengukuran absorbansi dilakukan tiga kali pada konsentrasi ekstrak 10.000 ppm, menghasilkan nilai berturut-turut sebesar 0,331; 0,346; dan 0,326, dengan rata-rata absorbansi 0,334. Berdasarkan kurva kalibrasi quercetin, kadar flavonoid total dalam ekstrak ditentukan sebesar 20,9 mg/L atau setara dengan 0,0021 mg *quercetin equivalent* (QE) per gram ekstrak. Selain itu, analisis kadar vitamin C menunjukkan bahwa ekstrak mentimun mengandung 9,588 ppm vitamin C. Setelah dilakukan pengenceran sebanyak 1000 kali, kadar vitamin C dalam sampel asli dikalkulasi sebesar 95,88%. (tabel 5.1) Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak mentimun memiliki kandungan vitamin C yang tinggi, sehingga dapat berkontribusi secara signifikan sebagai agen antioksidan dalam aplikasi topikal maupun terapeutik.

Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Flavonoid dan Asam Askorbat Ekstrak Mentimun

Parameter	Hasil
Flavonoid	20,9 mg/L (setara 0,0021 mg QE/g ekstrak)
Asam Askorbat	95,88% (setelah pengenceran 1000× dari 9,588 ppm)

Perlakuan model hewan coba *xerosis cutis* derajat II dalam penelitian ini merujuk pada metode yang telah divalidasi secara eksperimental, yaitu melalui aplikasi topikal kombinasi aseton 70% dan etanol (1:1) pada kulit punggung tikus Wistar yang telah dicukur. Perlakuan ini dilakukan dua kali sehari selama tujuh hari dan terbukti efektif dalam menginduksi manifestasi klinis *xerosis* tingkat II, ditandai dengan kulit yang kering (panah hitam), bersisik halus hingga sedang, tekstur permukaan kasar, serta adanya retakan linier superfisial (panah biru). Evaluasi makroskopis dilakukan secara visual menggunakan digital mikroskop, seperti pada gambar 5.1 berikut:

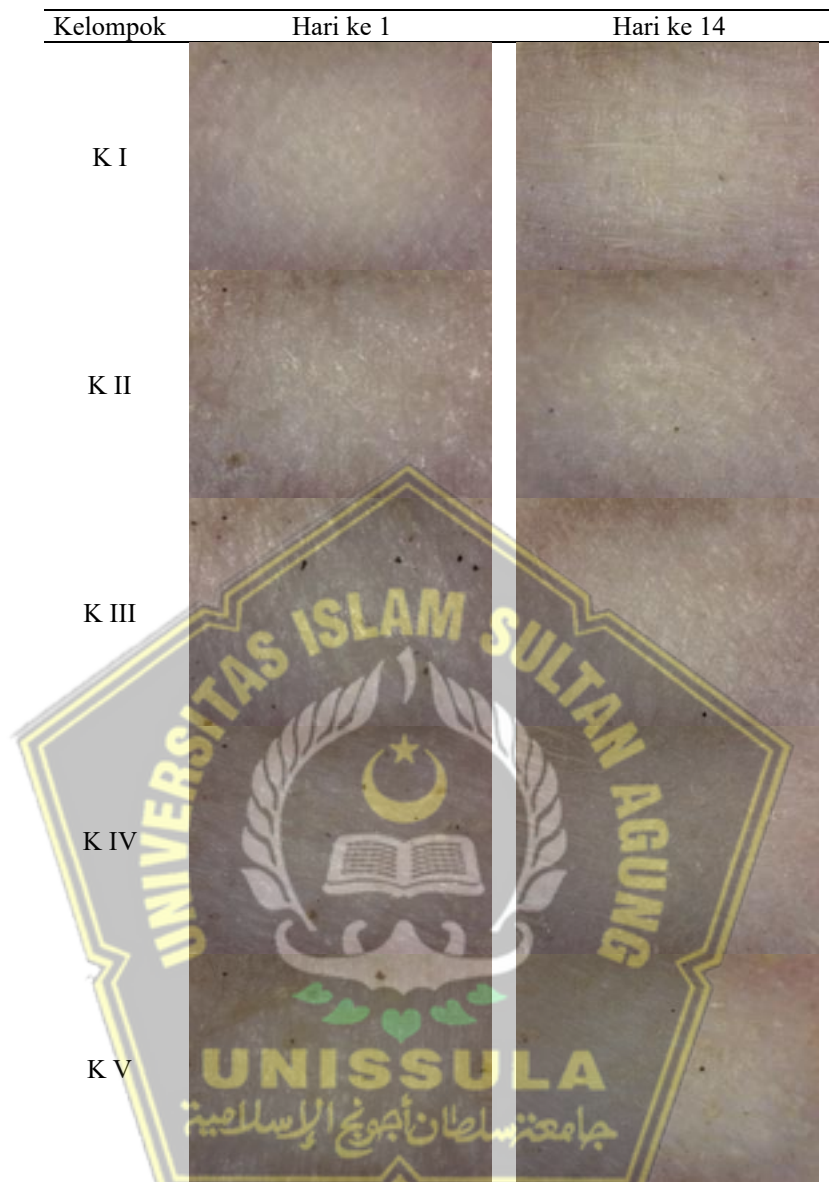


Gambar 5.1 Makroskopis kulit tikus sehat (A) dan model tikus *xerosis cutis* derajat II (B).

Hasil observasi visual pada hari ke-8 setelah proses induksi menunjukkan bahwa seluruh tikus model yang telah diberikan perlakuan kombinasi aseton-etanol secara konsisten memperlihatkan ciri khas xerosis cutis derajat II. Karakteristik tersebut meliputi kulit kering, bersisik halus hingga sedang, permukaan yang kasar, serta terdapatnya retakan linier superfisial pada kulit punggung. Validasi tersebut menegaskan bahwa model hewan *xerosis cutis* derajat II yang digunakan dalam penelitian ini telah berhasil dibentuk secara efektif dan relevan untuk digunakan dalam tahap pemberian perlakuan topikal selama 14 hari ke depan.

Setelah proses induksi selesai dan model hewan dianggap valid, masing-masing kelompok tikus menerima perlakuan topikal sesuai dengan kelompoknya selama 14 hari berturut-turut. Evaluasi makroskopis dilakukan menggunakan digital mikroskop untuk menilai perubahan kondisi kulit berdasarkan parameter klinis xerosis tingkat II, yang ditandai dengan kulit kering, bersisik halus hingga sedang, tekstur permukaan yang kasar, serta adanya retakan linier superfisial.

Hasil pengamatan pada hari ke-1, seluruh kelompok yang diinduksi xerosis (K2 hingga K5) menunjukkan manifestasi klinis yang konsisten dengan xerosis tingkat II, seperti permukaan kulit yang tampak kusam, kasar, dan ditandai oleh sisik halus serta bintik-bintik kehitaman. Sebaliknya, Kelompok K1 (kelompok normal) menunjukkan kulit yang halus, lembab, dan tanpa kelainan permukaan, serta digunakan sebagai referensi kulit sehat, gambar 5.2.



Gambar 5.2 Makroskopis jaringan kulit tikus hari ke 1 dan hari ke 14 perlakuan tiap kelompok

Pengamatan pada hari ke 14 perlakuan, terjadi perbaikan kondisi kulit dengan derajat berbeda antar kelompok. Kelompok K2 (kontrol negatif) masih menunjukkan kulit yang tampak kasar dan kering, dengan sisik halus yang masih tampak jelas, menunjukkan minimnya proses perbaikan tanpa intervensi topikal. Kelompok K3 (kontrol positif) yang diberi krim ceramide

10% memperlihatkan perbaikan makroskopis yang cukup baik dengan berkurangnya sisik dan peningkatan kelembapan permukaan kulit.

Kelompok K4 (perlakuan krim ekstrak mentimun 3%) menunjukkan perbaikan yang lebih nyata dibanding K2, ditandai dengan permukaan kulit yang mulai halus dan kilap kulit yang meningkat. Kelompok K5 (perlakuan krim ekstrak mentimun 5%) menunjukkan hasil paling optimal, dengan gambaran kulit yang secara visual sangat mendekati Kelompok K1 (normal) tekstur kulit tampak lebih halus, lembut, dan tidak ditemukan sisik ataupun retakan linier. Krim ekstrak mentimun 5% berpotensi kuat sebagai agen topikal dalam memperbaiki kerusakan kulit akibat xerosis cutis.

5.1.2 Hasil analisis rerata kadar TNF- α pada jaringan kulit tikus dengan model *Xerosis cutis* Derajat II.

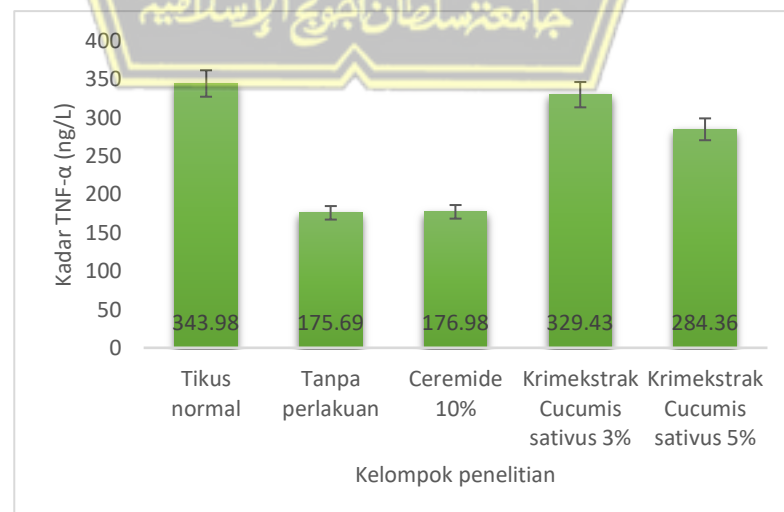
Rerata dan hasil analisis kadar TNF- α pada jaringan kulit tikus dengan model *Xerosis cutis* derajat II dapat dilihat pada tabel 5.3. dan gambar grafik 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji normalitas, homogenitas, rerata kadar TNF- α (ng/L) dan Uji *Kruskal Wallis*

Kelompok	Kadar TNF- α (ng/L)					<i>P value</i>
	K1	K2	K3	K4	K5	
Mean	343.98	175.69	176.98	329.43	284.36	
SD	43.07	24.14	35.01	93.70	55.27	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.776*	0.495 *	0.041	0.880 *	0.676 *	
<i>Leuvene Test</i>						0.046
<i>Kruskal Wallis</i>						0.000 *

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

Analisis kadar *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) pada jaringan kulit tikus model *xerosis cutis* derajat II menunjukkan adanya variasi rerata antar kelompok perlakuan. Kelompok K1 (tikus normal, tidak diinduksi dan tidak diberikan perlakuan) memiliki kadar TNF- α lebih tinggi, yaitu 343,98 ng/L, kelompok K2 (tikus model *xerosis cutis* derajat II dengan pakan standar tanpa perlakuan) menunjukkan kadar TNF- α yang lebih rendah (175,69 ng/L), kelompok K3 (tikus model *xerosis cutis* diberikan krim ceramide 10%) menunjukkan rerata kadar TNF- α sebesar 176,98 ng/L, kelompok K4 (tikus model *xerosis cutis* diberikan krim ekstrak mentimun 3%) menunjukkan kadar TNF- α sebesar 329,43 ng/L, lebih tinggi dibandingkan K2 dan K3, kelompok K5 (tikus model *xerosis cutis* diberikan krim ekstrak mentimun 5%) menunjukkan kadar TNF- α sebesar 284,36 ng/L, yang lebih rendah dibandingkan K4, gambar 5.3.



Gambar 5.3 Grafik rerata kadar kadar TNF- α (ng/L) tiap kelompok perlakuan

Uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data berdistribusi normal pada sebagian besar kelompok ($p > 0,05$), kecuali K4 ($p = 0,041$), yang menandakan penyimpangan dari distribusi normal. Uji *Levene* menghasilkan nilai $p = 0,046$, menunjukkan bahwa data tidak homogen. Analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*, yang menunjukkan hasil signifikan ($p = 0,000$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar TNF- α yang bermakna secara statistik antar semua kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan Uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbandingan antar dua kelompok perlakuan, tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Analisis Uji *Mann Whitney* rerata kadar TNF- α antar kelompok

Kelompok Perbandingan	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	*0,002	*0,002	0,699	0,065
K2	-	-	0,699	*0,009	*0,002
K3	-	-	-	*0,009	*0,009
K4	-	-	-	-	0,310

Keterangan: * Berbeda bermakna $p < 0.05$

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar TNF- α yang bermakna antar beberapa kelompok perlakuan. Kelompok tikus normal (K1) menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok K2 ($p = 0,002$) dan K3 ($p = 0,002$), yang menandakan bahwa induksi *xerosis cutis* maupun pemberian krim ceramide 10% mempengaruhi kadar TNF- α secara signifikan jika dibandingkan dengan kulit sehat. Sebaliknya, tidak terdapat perbedaan bermakna antara K1 dan K4 ($p = 0,699$)

serta K1 dan K5 ($p = 0,065$), meskipun nilai p pada K5 mendekati ambang signifikansi. Hal ini menunjukkan bahwa krim ekstrak mentimun 5% (K5) memiliki potensi menyebabkan kadar TNF- α lebih rendah hingga mendekati kondisi normal, sedangkan konsentrasi 3% (K4) belum menunjukkan efektivitas yang memadai.

Perbandingan antara kelompok yang diinduksi xerosis menunjukkan bahwa krim ceramide 10% (K3) tidak berbeda secara signifikan dari kelompok tanpa perlakuan (K2) dengan $p = 0,699$. Sebaliknya, ekstrak mentimun 3% (K4) dan 5% (K5) justru menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan K2 ($p = 0,009$ dan $p = 0,002$), mengindikasikan bahwa kedua perlakuan tersebut menghasilkan kadar TNF- α yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif. Selain itu, K4 juga berbeda bermakna dengan K3 ($p = 0,009$), dan begitu pula K5 dengan K3 ($p = 0,009$), yang menandakan bahwa krim ekstrak mentimun belum seefektif krim ceramide dalam menekan inflamasi. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara K4 dan K5 ($p = 0,310$), sehingga peningkatan dosis dari 3% menjadi 5% belum cukup memberikan perubahan yang bermakna secara statistik terhadap kadar TNF- α .

5.1.3 Hasil analisis rerata kadar TGF- β pada jaringan kulit tikus dengan model *Xerosis cutis* derajat II.

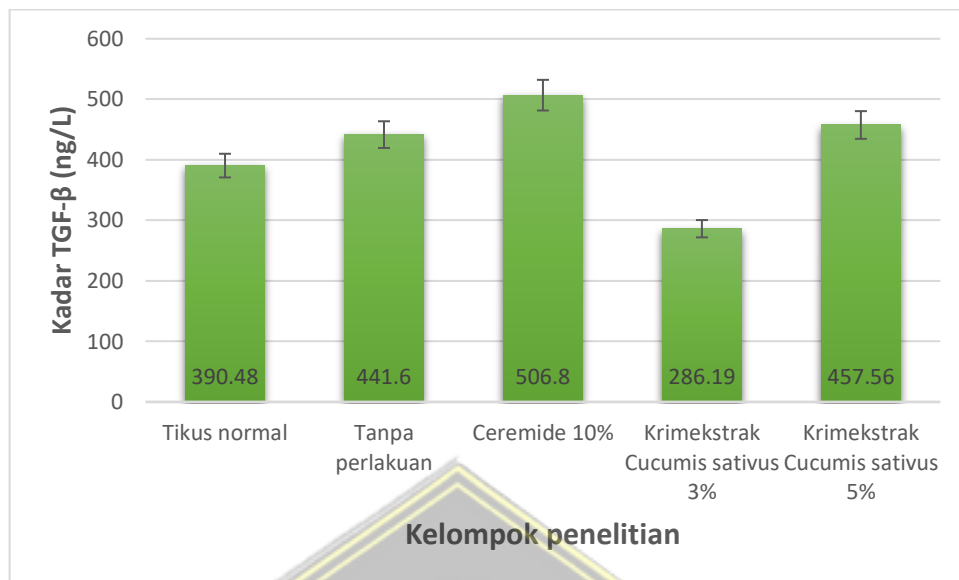
Hasil rerata kadar TGF- β pada jaringan kulit tikus dengan model *Xerosis cutis* derajat II dapat dilihat pada tabel 5.1. dan gambar 5.1

Tabel 5.4 Hasil analisis uji normalitas, homogenitas, rerata kadar TGF- β dan uji *One way anova*

Kelompok	Kadar TGF- β (ng/L)					<i>P value</i>
	K1	K2	K3	K4	K5	
Mean	390.48	441.60	506.80	286.19	457.56	
SD	143.42	90.01	95.80	61.67	148.18	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.693 *	0.425 *	0.345 *	0.623 *	0.495 *	
<i>Leuvene Test</i>						0.119 *
<i>One way anova</i>						0.026 *

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

Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar *Transforming Growth Factor-beta* (TGF- β) antar kelompok tikus perlakuan. Kelompok K3 (tikus *xerosis cutis* derajat II diberikan krim ceramide 10%) menunjukkan rerata kadar TGF- β yang lebih besar 506,80 ng/L, diikuti oleh K5 (krim ekstrak mentimun 5%) sebesar 457,56 ng/L, dan K2 (kontrol negatif) sebesar 441,60 ng/L. Sementara itu, K1 (tikus sehat tanpa perlakuan) memiliki rerata 390,48 ng/L, dan K4 (krim ekstrak mentimun 3%) menunjukkan kadar yang lebih rendah, yaitu 286,19 ng/L, Grafik 5.5.



Gambar 5.4 Grafik rerata kadar TGF-β setiap kelompok perlakuan

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh data berdistribusi normal ($p > 0,05$), dengan nilai pada K4 ($p = 0,623$) dan K3 ($p = 0,345$). Uji *Levene* menghasilkan $p = 0,119$, yang menunjukkan bahwa data memiliki varian yang homogen antar kelompok. Sehingga, analisis dilanjutkan menggunakan uji *One way anova*.

Hasil uji *One way anova* menunjukkan nilai $p = 0,026$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan kadar TGF-β yang signifikan secara statistik antar kelompok pemberian ceramide maupun ekstrak mentimun berpengaruh terhadap peningkatan kadar TGF-β dalam jaringan kulit. Hasil uji *One way anova* menunjukkan signifikansi, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan kadar TGF-β antar pasangan kelompok secara lebih spesifik, tabel 5.2.

Tabel 5.5 Uji *Post Hoc* LSD kadar TGF- β pada masing-masing kelompok

Kelompok perbandingan	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0.440	*0.086	0.122	0.313
K2	-	-	0.326	*0.025	0.808
K3	-	-	-	*0,002	0.457
K4	-	-	-	-	*0,014

Keterangan: * Berbeda bermakna $p < 0,05$

Uji *Post Hoc* LSD dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan kadar TGF- β antar pasangan kelompok, berdasarkan tabel 5.4, ditemukan beberapa perbandingan yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Perbedaan signifikan terjadi antara K2 dan K4 ($p = 0,025$), yang menunjukkan bahwa krim ekstrak mentimun 3% (K4) menghasilkan kadar TGF- β yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2). Perbedaan yang sangat bermakna juga terjadi antara K3 dan K4 ($p = 0,002$), yang menandakan bahwa krim ceramide 10% (K3) jauh lebih efektif dalam meningkatkan kadar TGF- β dibandingkan ekstrak mentimun 3%.

Terdapat perbedaan signifikan antara K4 dan K5 ($p = 0,014$), menunjukkan bahwa peningkatan dosis krim ekstrak mentimun dari 3% menjadi 5% berdampak nyata terhadap peningkatan kadar TGF- β . Perbandingan antara kelompok lainnya, seperti K1 dengan K2, K1 dengan K4, K1 dengan K5, dan K2 dengan K3, tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$), menandakan bahwa kadar TGF- β antar kelompok tersebut relatif tidak berbeda secara statistik. Meskipun perbandingan K1 vs

K3 menunjukkan $p = 0,086$. Hasil ini menunjukkan bahwa krim ceramide 10% memiliki efek paling kuat dalam meningkatkan kadar TGF- β , dan ekstrak mentimun menunjukkan potensi yang meningkat seiring dosis yang ditingkatkan. Rerata kadar TGF- β yang lebih besar pada kelompok perlakuan khususnya K3 dan K5 menunjukkan bahwa krim ceramide 10% dan ekstrak mentimun 5% mampu merangsang respons regeneratif lebih optimal dibandingkan kelompok lainnya. Sebaliknya, kadar yang lebih rendah pada K4 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak mentimun 3% belum cukup efektif dalam meningkatkan ekspresi TGF- β secara bermakna.

5.2 Pembahasan

Model hewan *xerosis cutis* derajat II berhasil dibentuk melalui aplikasi kombinasi aseton 70% dan etanol (1:1) selama tujuh hari, menghasilkan karakteristik khas kulit kering, bersisik, dan terdapat retakan superfisial. Evaluasi makroskopis memperlihatkan bahwa induksi efektif dan konsisten pada semua kelompok yang diinduksi, sesuai dengan metode validasi sebelumnya.¹

Setelah 14 hari perlakuan topikal, perbaikan kondisi kulit berbeda antar kelompok. Kelompok kontrol negatif (K2) tetap menunjukkan kulit kasar dan bersisik. Sebaliknya, ceramide 10% (K3) menunjukkan perbaikan cukup baik, dengan berkurangnya sisik dan kulit tampak lebih lembap, sesuai mekanisme ceramide dalam memperkuat barrier kulit.⁶⁶ Ekstrak mentimun 3% (K4) memberikan perbaikan ringan, sedangkan ekstrak mentimun 5% (K5) menunjukkan hasil paling optimal, mendekati kondisi kulit normal. Efek ini diduga

berasal dari kandungan antioksidan dan flavonoid dalam mentimun yang mempercepat regenerasi kulit dan memperbaiki hidrasi.¹⁵

Hasil analisis kadar TNF- α menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, kelompok tikus sehat yang tidak diinduksi menunjukkan kadar TNF- α lebih tinggi, secara fisiologis kadar sitokin proinflamasi seperti TNF- α biasanya rendah pada kulit sehat. Namun, kadar lebih tinggi ini dapat disebabkan oleh respons fisiologis normal terhadap paparan lingkungan atau efek stres minor selama penanganan hewan.⁶⁷ Kelompok yang diinduksi *xerosis cutis* dan tidak diberikan perlakuan topikal menunjukkan kadar TNF- α lebih rendah, berbeda signifikan dari kelompok sehat. Induksi dengan kombinasi etanol-aseton merusak barrier kulit dan dapat memicu respons inflamasi lokal akut yang kemudian mengalami desensitisasi sitokin akibat kerusakan kronik pada stratum korneum.¹²

Peningkatan dosis menjadi 5% lebih rendah terhadap kadar TNF- α berbeda bermakna dibandingkan K2 maupun K3, namun tidak berbeda bermakna dibandingkan K4. Ekstrak mentimun 5% memiliki potensi menyebabkan kadar TNF- α lebih rendah mendekati kondisi normal, tetapi belum seefektif ceramide. Efek antiinflamasi mentimun bersifat dosis-dependen, dan potensi optimal dicapai pada konsentrasi lebih tinggi dari 5%.¹⁵

Hasil analisis pada kelompok tikus sehat mencerminkan tingkat fisiologis normal tanpa rangsangan inflamasi maupun reparatif. Meski tidak mengalami gangguan barrier, ekspresi TGF- β tetap ada dalam jumlah dasar untuk mempertahankan homeostasis kulit.^{68,69} Tikus yang diinduksi *xerosis cutis* tanpa

perlakuan menunjukkan peningkatan kadar TGF- β . Peningkatan ini mengindikasikan aktivasi alami dari mekanisme regeneratif kulit untuk memperbaiki kerusakan akibat gangguan barrier oleh kombinasi aseton etanol. Namun, tanpa dukungan terapi topikal, peningkatan ini tidak optimal dan respons regeneratif kemungkinan terhambat oleh inflamasi persisten.¹²

Kelompok ceramide 10% menunjukkan kadar TGF- β lebih tinggi yang berbeda signifikan dengan krim mentimun 3%. Ceramide 10% sangat efektif dalam merangsang regenerasi jaringan. Ceramide meningkatkan fungsi barrier kulit dan mengaktivasi ekspresi TGF- β melalui perbaikan struktur lipid epidermis serta penghambatan sitokin proinflamasi, ceramide juga terbukti meningkatkan proliferasi keratinosit dan migrasi sel fibroblas komponen penting dalam aktivasi TGF- β .^{70,71}

Kelompok ekstrak Mentimun 3% menunjukkan kadar TGF- β lebih rendah, bahkan lebih rendah dari kelompok kontrol normal (K1). Konsentrasi 3% ekstrak mentimun belum efektif dalam menstimulasi ekspresi TGF- β . Meskipun *Cucumis sativus* mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan asam askorbat yang bersifat antioksidan dan antiinflamasi, dosis rendah mungkin tidak cukup memicu respons reparatif yang kuat.⁷²

Kadar TGF- β lebih tinggi pada ekstrak mentimun 5%, menunjukkan adanya efek dosis dari ekstrak mentimun. Hasil ini berbeda signifikan dari K4 ($p = 0,014$) dan mendekati efektivitas kelompok ceramide (K3). Peningkatan ini mengindikasikan bahwa dosis 5% ekstrak mentimun memicu ekspresi TGF- β dan

mendukung proses regenerasi kulit. Hal ini sejalan dengan temuan terbaru bahwa senyawa dalam mentimun seperti cucurbitacin dan flavonoid dapat meningkatkan aktivitas sel fibroblas dan produksi kolagen, yang dimediasi oleh TGF- β .¹⁵

Kelompok tikus sehat (K1), kadar TGF- β mencerminkan keadaan homeostasis fisiologis yang menjaga regenerasi basal dan perbaikan jaringan secara rutin. Ketika kulit mengalami kerusakan, seperti pada xerosis cutis, sistem regeneratif ini dapat teraktivasi untuk memulihkan integritas sawar kulit dan matriks ekstraseluler.⁷³ Pada kelompok perlakuan krim ekstrak mentimun 3% (K4), kandungan flavonoid dan vitamin C diduga belum mencapai konsentrasi efektif untuk menginduksi aktivasi jalur Smad2/3 yang memediasi ekspresi TGF- β , sehingga peningkatan regenerasi yang dihasilkan relatif rendah dibandingkan kondisi kulit sehat.⁷⁴ Sebaliknya, pemberian ekstrak 5% (K5) memperlihatkan tren kenaikan kadar TGF- β mendekati atau bahkan melebihi nilai fisiologis K1, mengindikasikan kemungkinan efek dosis-respons. Namun, perbedaan ini tidak signifikan secara statistik, yang dapat dijelaskan oleh variabilitas biologis tinggi antar hewan uji (simpangan baku > 100) dan jumlah sampel yang terbatas (n = 6), sehingga sensitivitas uji statistik berkurang.⁷⁵

Secara molekuler, TGF- β berperan dalam regenerasi kulit melalui aktivasi jalur Smad2/3, yang meningkatkan ekspresi fibronectin (FN1), menyeimbangkan matrix metalloproteinases (MMP2, MMP9) dan tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP1, TIMP3), serta mendorong sintesis kolagen tipe I dan III. Aktivasi ini mendukung pembentukan matriks baru yang kuat dan memperbaiki lapisan dermis maupun epidermis. Kandungan flavonoid dan vitamin C pada

mentimun bekerja sebagai antioksidan yang mengaktifkan faktor transkripsi Nrf2, menekan pembentukan reactive oxygen species (ROS), dan menghambat NF- κ B, sehingga mengurangi tekanan inflamasi dan memberi peluang bagi peningkatan ekspresi TGF- β . Respons ini bersifat konsentrasi-tergantung, sehingga konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi berpotensi menghasilkan stimulasi regeneratif yang lebih konsisten.

Penelitian ini memberikan bukti awal mengenai potensi krim ekstrak mentimun (*Cucumis sativus*) pada model xerosis cutis derajat II. Interpretasi hasil penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, pengukuran biomarker TNF- α dan TGF- β hanya dilakukan pada satu titik waktu (hari ke-15 setelah 14 hari perlakuan), sehingga tidak menggambarkan dinamika temporal respon inflamasi dan regeneratif. Penilaian pada beberapa titik waktu (mis. hari ke-3, 7, 14, dan 21) akan memberikan gambaran progresif yang lebih lengkap. Kedua, pengambilan sampel untuk ELISA dilakukan dari jaringan kulit lokal sehingga bersifat invasif dan tidak mencerminkan efek sistemik; penambahan pengukuran biomarker serum akan membantu menilai kemungkinan efek sistemik krim.

Penting untuk mengurangi potensi bias kondisi *xerosis cutis in vivo* sangat rentan terhadap variasi lingkungan (mis. kelembapan relatif, suhu, ventilasi, dan stres handling hewan). Variasi lingkungan ini dapat memengaruhi TEWL, tingkat stres oksidatif, dan ekspresi sitokin sehingga berpotensi memengaruhi hasil. Untuk meminimalkan bias tersebut di penelitian lanjutan disarankan: (1) melakukan penahanan hewan dalam fasilitas dengan kontrol suhu dan kelembapan yang terstandarisasi selama periode induksi dan perlakuan; (2) menerapkan periode

aklimatisasi yang cukup sebelum intervensi; (3) randomisasi alokasi hewan ke kelompok dan blind assessment pada evaluasi makroskopis dan analitik; (4) standarisasi prosedur penanganan (waktu aplikasi, operator, metode pembersihan kulit) serta pencatatan parameter lingkungan harian untuk analisis kovariat; dan (5) melakukan replikasi eksperimen pada batch hewan yang berbeda untuk menguji reproduksibilitas. Penerapan langkah-langkah ini akan mengurangi konfounding lingkungan dan meningkatkan validitas internal hasil penelitian.



BAB VI

KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Aplikasi topikal krim ekstrak mentimun berpengaruh terhadap kadar TNF- α dan TGF- β pada jaringan kulit tikus model xerosis cutis derajat II.
2. Pemberian krim ekstrak mentimun mampu menurunkan kadar TNF- α pada tikus Wistar betina model xerosis cutis derajat II. Penurunan terbesar terjadi pada dosis 5%, yang berbeda bermakna dibandingkan kontrol negatif
3. Pemberian krim ekstrak mentimun tidak menunjukkan peningkatan kadar TGF- β yang signifikan pada kedua dosis yang diuji. Meskipun rerata kadar TGF- β pada kelompok dosis 5% lebih tinggi dibandingkan dosis 3%, perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik dibandingkan kontrol negatif.
4. Terdapat perbedaan efek antara krim ekstrak mentimun dosis 3% dan 5%, di mana dosis 5% menunjukkan hasil yang lebih signifikan dalam menurunkan TNF- α , Namun tidak signifikan meningkatkan TGF- β .

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan sebagai berikut:

1. Penelitian lanjutan dapat menggunakan desain time-series dengan pengambilan sampel berkala untuk memantau perubahan kadar TNF- α dan TGF- β secara dinamis, guna memperoleh pemahaman yang lebih

menyeluruh tentang waktu efektif kerja sediaan krim dan puncak aktivitas biologisnya.

2. Melakukan pengukuran biomarker secara longitudinal pada beberapa titik waktu (misalnya hari ke-3, 7, 14, dan 21) untuk memperoleh gambaran kronologis dinamika respon inflamasi (TNF- α) dan regeneratif (TGF- β) selama proses penyembuhan kulit.
3. Menggabungkan analisis jaringan kulit dan biomarker serum guna mengevaluasi efek topikal secara lokal maupun kemungkinan efek sistemik dari krim ekstrak mentimun.
4. Mengendalikan faktor lingkungan seperti kelembapan relatif, suhu ruangan, ventilasi, dan intensitas cahaya selama proses induksi dan perlakuan, serta melakukan pencatatan harian untuk meminimalkan bias akibat pengaruh lingkungan pada kondisi xerosis cutis.
5. Menerapkan randomisasi, blinding, dan standarisasi prosedur penanganan hewan untuk mengurangi bias pengamatan dan meningkatkan validitas internal.
6. Menggunakan replikasi eksperimen pada batch hewan yang berbeda untuk memastikan konsistensi dan reproduktibilitas hasil.
7. Mengeksplorasi dosis yang lebih tinggi dari 5% untuk menentukan potensi dosis optimal ekstrak mentimun, sekaligus menguji efeknya pada parameter molekuler lain seperti AQP3, filaggrin, dan kolagen.
8. Penelitian lanjutan disarankan untuk menambahkan pengambilan sampel dari serum darah, sehingga memungkinkan analisis biomarker sistemik. Hal

ini akan memperkuat interpretasi data dan membantu mengidentifikasi apakah senyawa bioaktif dalam krim memiliki efek biologis yang lebih luas dari sekadar lokal/topikal.



DAFTAR PUSTAKA

1. Ritter CG. Xerosis. In: *Dermatology in Public Health Environments*. Cham: Springer International Publishing, 2023, pp. 1827–1838.
2. Gimenez-Arnau AM. Xerosis Means “Dry Skin”: Mechanisms, Skin Conditions, and Its Management. In: *Filaggrin*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014, pp. 235–249.
3. Augustin M, Wilsmann-Theis D, Körber A, et al. Diagnosis and treatment of xerosis cutis – a position paper. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2019; 17: 3–33.
4. Amani T, Surenthar M, Shanmugam R. Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of Cucumis sativus and Citrus macroptera Herbal Formulation: An In-Vitro Study. *Cureus*. Epub ahead of print 8 January 2024. DOI: 10.7759/cureus.51818.
5. Sahu T, Sahu J. Cucumis sativus (Cucumber): A Review on Its Pharmacological Activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Research* 2015; 4–9.
6. Insanu M, Rizaldy D, Silviani V, et al. Chemical Compounds and Pharmacological Activities of Cucumis genus. *Biointerface Res Appl Chem* 2021; 12: 1324–1334.
7. Sari TA. Overview of Traditional Use, Phytochemical and Pharmacological Activities of Cucumber (Cucumis sativus L.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine* 2021; 6: 39–49.
8. de Oliveira Cruz RA, Braz Evangelista C, Alves da Silva M, et al. Risk and factors related to the development of lesions due to xerosis in hospitalized elderly people. *Invest Educ Enferm*; 43. Epub ahead of print 1 April 2025. DOI: 10.17533/udea.iee.v43n1e03.
9. Moniaga CS, Tominaga M, Takamori K. Mechanisms and management of itch in dry skin. *Acta Dermato-Venereologica* 2020; 100: 10–21.
10. Torshina IE. Xerosis: from pathogenesis to solving practical problems. *Vestn Dermatol Venerol* 2024; 100: 81–91.
11. Parker J, Scharfbillig R, Jones S. Moisturisers for the treatment of foot xerosis: A systematic review. *Journal of Foot and Ankle Research*; 10. Epub ahead of print 7 February 2017. DOI: 10.1186/s13047-017-0190-9.
12. Kim JH, Kwack MH, Lee WJ. Effects of antioxidants on skin hydration, inflammatory cytokines, and keratinocyte differentiation markers in a

PM10-exposed skin barrier–disrupted mouse model. *Int J Immunopathol Pharmacol*; 38. Epub ahead of print 1 January 2024. DOI: 10.1177/03946320241303860.

13. Čižmarová B, Hubková B, Tomečková V, et al. Flavonoids as Promising Natural Compounds in the Prevention and Treatment of Selected Skin Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*; 24. Epub ahead of print 1 April 2023. DOI: 10.3390/ijms24076324.
14. Shruti K, Dighole S, Alfisha M. TO FORMULATE AND EVALUATION OF MOISTURIZING CREAM BY USING CUCUMBER EXTRACT. *EPRA International Journal of Research and Development (IJRD)*. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.36713/epra2016.
15. Saini S. *Formulation And Evaluation Of Aloe-Cucumber Face Cream: A Detox To Summer Skin*, www.ijcrt.org (2023).
16. Haider A, Nasir B, Tariq I, et al. Characterization, development and evaluation of a cream by using terminalia chebula and cucumber sativus extracts. *Int J Health Sci (Qassim)* 2023; 7: 1768–1779.
17. Wilsya M, Agustin Y. Optimasi Formula Gel Ekstrak Mentimun(Cucumis sativus) Sebagai Pelembab Kulit dengan Variasi Tragakan dan Metil Ester Sulfonat (MES). *Jurnal Medika Malahayati* 2023; 7: 553.
18. Bernardini C, Zannoni A, Bertocchi M, et al. Water/ethanol extract of Cucumis sativus L. fruit attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response in endothelial cells. *BMC Complement Altern Med*; 18. Epub ahead of print 25 June 2018. DOI: 10.1186/s12906-018-2254-1.
19. Agatemor U, Nwodo O, Anosike C. Anti-inflammatory Activity of Cucumis sativus L. *Br J Pharm Res* 2015; 8: 1–8.
20. Ritsu M, Kawakami K, Kanno E, et al. Critical role of tumor necrosis factor- α in the early process of wound healing in skin. *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery* 2017; 21: 14–19.
21. Jang DI, Lee AH, Shin HY, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- α) in autoimmune disease and current tnf- α inhibitors in therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22: 1–16.
22. Korkmaz E, Friedrich EE, Ramadan MH, et al. Therapeutic intradermal delivery of tumor necrosis factor-alpha antibodies using tip-loaded dissolvable microneedle arrays. *Acta Biomater* 2015; 24: 96–105.

23. Chokshi A, Demory Beckler M, Laloo A, et al. Paradoxical Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) Inhibitor-Induced Psoriasis: A Systematic Review of Pathogenesis, Clinical Presentation, and Treatment. *Cureus*. Epub ahead of print 1 August 2023. DOI: 10.7759/cureus.42791.
24. Banday MZ, Balkhi HM, Hamid Z, et al. Tumor necrosis factor- α (TNF- α)-308G/A promoter polymorphism in colorectal cancer in ethnic Kashmiri population - A case control study in a detailed perspective. *Meta Gene* 2016; 9: 128–136.
25. Qin Z, Xia W, Fisher GJ, et al. YAP/TAZ regulates TGF- β /Smad3 signaling by induction of Smad7 via AP-1 in human skin dermal fibroblasts. *Cell Commun Signal* 2018; 16: 18.
26. Nolte M, Margadant C. Controlling Immunity and Inflammation through Integrin-Dependent Regulation of TGF- β . *Trends in Cell Biology* 2020; 30: 49–59.
27. Liarte S, Bernabé-García Á, Nicolás FJ. Role of TGF- β in Skin Chronic Wounds: A Keratinocyte Perspective. *Cells*; 9. Epub ahead of print 28 January 2020. DOI: 10.3390/cells9020306.
28. Takzaree N, Hadjiakhondi A, Hassanzadeh G, et al. Transforming Growth Factor- β (TGF- β) Activation in Cutaneous Wounds after Topical Application of Aloe Vera Gel. *J Physiol Pharmacol*, www.nrcresearchpress.com (2016).
29. Lim KM. Skin epidermis and barrier function. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22: 1–3.
30. 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.
31. 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.
32. Fan X, Xu Y, Ma C, et al. In-situ growth of Co₃O₄ nanoparticles based on electrospray for an acetone gas sensor. *J Alloys Compd* 2021; 854: 157234.
33. Almanzalawy MS, Elkady MF, Mori S, et al. The role of acetone for cleaner combustion in diesel engine. *Process Safety and Environmental Protection* 2023; 170: 886–897.

34. Jiang L, Chen Z, Cui Q, et al. Density functional theory research on the adsorption properties of Ti-doped graphene for acetone and other gases. *Mater Sci Semicond Process* 2022; 138: 106252.
35. 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.
36. Hara-Chikuma M, Verkman AS. Roles of Aquaporin-3 in the Epidermis. *Journal of Investigative Dermatology* 2008; 128: 2145–2151.
37. Pocino K, Carnazzo V, Stefanile A, et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Ally and Enemy in Protean Cutaneous Sceneries. *International Journal of Molecular Sciences*; 25. Epub ahead of print 1 July 2024. DOI: 10.3390/ijms25147762.
38. Stoffel E, Maier H, Riedl E, et al. Analysis of anti-tumour necrosis factor-induced skin lesions reveals strong T helper 1 activation with some distinct immunological characteristics. *British Journal of Dermatology* 2018; 178: 1151–1162.
39. Riethmuller C, McAleer MA, Koppes SA, et al. Filaggrin breakdown products determine corneocyte conformation in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2015; 136: 1573–1580.e2.
40. Choudhary V, Olala LO, Kagha K, et al. Regulation of the Glycerol Transporter, Aquaporin-3, by Histone Deacetylase-3 and p53 in Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology* 2017; 137: 1935–1944.
41. Frangogiannis NG. Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *Journal of Experimental Medicine*; 217. Epub ahead of print 1 March 2020. DOI: 10.1084/jem.20190103.
42. Juhl P, Bondesen S, Hawkins CL, et al. Dermal fibroblasts have different extracellular matrix profiles induced by TGF- β , PDGF and IL-6 in a model for skin fibrosis. *Sci Rep*; 10. Epub ahead of print 1 December 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-74179-6.
43. Ying Y, Yang B. Physiological Functions of Aquaporin-3 in Mediating Water and Solutes. *Physiology*; 39. Epub ahead of print May 2024. DOI: 10.1152/physiol.2024.39.S1.1779.
44. Kim Y, Lim K-M. Skin barrier dysfunction and filaggrin. *Arch Pharm Res* 2021; 44: 36–48.

45. Valizadeh M, Mirzaei B, Tavallaei M, et al. Down-regulation of TGF- β 1, TGF- β receptor 2, and TGF- β -associated microRNAs, miR-20a and miR-21, in skin lesions of sulfur mustard-exposed Iranian war veterans. *Journal of Receptors and Signal Transduction* 2015; 35: 634–639.
46. Stefanovic N, Irvine AD. Filaggrin and beyond: New insights into the skin barrier in atopic dermatitis and allergic diseases, from genetics to therapeutic perspectives. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 2024; 132: 187–195.
47. Danso MO, Van Drongelen V, Mulder A, et al. TNF- α and Th2 cytokines induce atopic dermatitis-like features on epidermal differentiation proteins and stratum corneum lipids in human skin equivalents. *Journal of Investigative Dermatology* 2014; 134: 1941–1950.
48. Serup J. EEMCO guidance for the assessment of dry skin (xerosis) and ichthyosis: clinical scoring systems. *Skin Research and Technology* 1995; 1: 109–114.
49. Pandey S, Choudhary B. Cucumber. 2014, pp. 121–149.
50. Montero-Vilchez T, Segura-Fernández-Nogueras M-V, Pérez-Rodríguez I, et al. Skin Barrier Function in Psoriasis and Atopic Dermatitis: Transepidermal Water Loss and Temperature as Useful Tools to Assess Disease Severity. *J Clin Med* 2021; 10: 359.
51. Perpetua Oragwu I, Ifeoma OP, Azubike O, et al. *Extraction of Oil From Cucumber Seed Phytochemical and Proximate Composition of Cucumber (Cucumis Sativus) Seed Oil*, www.rsisinternational.org (2021).
52. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. 6th ed. Jakarta, 2020.
53. 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. *parapemikir - Jurnal Ilmiah Farmasi*, <http://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/parapemikir> (2020).
54. Natalie A, Mulyani S, Admadi BH, et al. Hubungan Lama Simpan dengan Karakteristik Mutu pada Beberapa Formulasi Krim Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). 2017; 5: 21–30.
55. Tari M, Indriani O, Studi PS, et al. FORMULASI DAN UJI STABILITAS FISIK SEDIAAN KRIM EKSTRAK SEMBUNG RAMBAT (*Mikania micrantha* Kunth). 2023; 15: 126.

56. Butarbutar MET, Chaerunisaa AY. Peran Pelembab dalam Mengatasi Kondisi Kulit Kering. *Majalah Farmasetika*; 6. Epub ahead of print 21 October 2020. DOI: 10.24198/mfarmasetika.v6i1.28740.
57. Nadeak BY, Made Birawan I. *The Selection of Moisturizer for Treatment of Atopic Dermatitis*. 2022.
58. Niczyporuk M. Rat skin as an experimental model in medicine. *Progress in Health Sciences* 2018; 8: 223–228.
59. Lariosa-Willingham K, Leonoudakis D, Simon F, et al. Imiquimod-induced pruritus in female wild-type and knockin Wistar rats: underscoring behavioral scratching in a rat model for antipruritic treatments. *BMC Res Notes*; 16. Epub ahead of print 1 December 2023. DOI: 10.1186/s13104-023-06627-1.
60. Adiputra IMS, Asnawati Munthe S, Ari Tania PO, et al. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Denpasar: Yayasan Kita Menulis, 2021.
61. 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).
62. 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.
63. PT. DERMA ELOK FARMA. Base Cream - Material Safety Data Sheet.
64. Hyundai Bioland, PT. Menjangan Sakti (Mensa Group). Technical Data Sheet – Cucumber Extract.
65. 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.
66. Schild J, Kalvodová A, Zbytovská J, et al. The role of ceramides in skin barrier function and the importance of their correct formulation for skincare applications. *Int J Cosmet Sci* 2024; 46: 526–543.
67. Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS (Eds.). *Comparative anatomy and histology a mouse, rat, and human atlas*. Academic Press. 2017.

68. Deng Z, Fan T, Xiao C, et al. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*; 9. Epub ahead of print 1 December 2024. DOI: 10.1038/s41392-024-01764-w.
69. Tominaga K, Suzuki HI. TGF- β signaling in cellular senescence and aging-related pathology. *International Journal of Molecular Sciences*; 20. Epub ahead of print 2 October 2019. DOI: 10.3390/ijms20205002.
70. Li Q, Fang H, Dang E, et al. The role of ceramides in skin homeostasis and inflammatory skin diseases. *Journal of Dermatological Science* 2020; 97: 2–8.
71. Carneiro R, Salgado A, Raposo S, et al. Topical emulsions containing ceramides: Effects on the skin barrier function and anti-inflammatory properties. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2011; 113: 961–966.
72. Torres A, Rego L, Martins MS, et al. How to Promote Skin Repair? In-Depth Look at Pharmaceutical and Cosmetic Strategies. *Pharmaceuticals*; 16. Epub ahead of print 1 April 2023. DOI: 10.3390/ph16040573.
73. Choi EH. Aging of the skin barrier. *Clin Dermatol* 2019; 37: 336–345.
74. Zulkefli N, Che Zahari CNM, Sayuti NH, et al. Flavonoids as Potential Wound-Healing Molecules: Emphasis on Pathways Perspective. *Int J Mol Sci*; 24. Epub ahead of print 2023. DOI: 10.3390/ijms24054607.
75. Fitts DA. Minimizing animal numbers: The variable-criteria sequential stopping rule. *Comp Med* 2011; 61: 206–218.