

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR NECROSIS
FACTOR-ALPHA (TNF- α) PADA JARINGAN GINJAL TIKUS
DIABETIK YANG DIBERIKAN ESTRAK DAUN**

Tithonia diversifolia

SKRIPSI



Oleh :

SIGIT SA'AD HIBATULLAH
NPM. 22820166

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA
SURABAYA
2025

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR NECROSIS
FACTOR-alpha (TNF- α) PADA JARINGAN GINJAL TIKUS
DIABETIK YANG DIBERIKAN EKSTRAK DAUN *Tithonia*
*diversifolia***

SKRIPSI

Skripsi ini diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Oleh :

SIGIT SA'AD HIBATULLAH

NPM : 22820166

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA**

SURABAYA

2025

HALAMAN PENGESAHAN

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR NECROSIS
FACTOR-alpha (TNF- α) PADA JARINGAN GINJAL TIKUS
DIABETIK YANG DIBERIKAN EKSTRAK DAUN *Tithonia
diversifolia***

Oleh :

SIGIT SA'AD HIBATULLAH

NPM : 22820166

Skripsi ini telah memenuhi syarat ujian guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan telah disetujui oleh Pembimbing Skripsi yang tertera dibawah ini :

Menyetujui

Dosen Pembimbing Utama



Dr. drh. Rondius Solfaine, M.P., APVet.

Dosen Pembimbing Pendamping



drh. Palestin, M.Imun.

Mengetahui

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Wijaya Kusuma Surabaya



drh. Rusti Apritya, M.Vet.

Tanggal : 15 Juli 2026

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : SIGIT SA'AD HIBATULLAH

NPM : 22820166

Telah melakukan perbaikan terhadap naskah skripsi yang berjudul :

Gambaran Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) Pada Jaringan Ginjal Tikus Diabetik Yang Diberikan Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia*

Sebagaimana telah disarankan oleh tim penguji pada tanggal

Tim Penguji

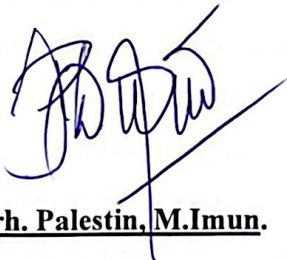
Ketua



Dr. drh. Rondius Solfaine, M.P., APVet.

NIK. 10526-ET

Anggota



drh. Palestin, M.Imun.

NIK. 21855-ET



drh. M. Noor Rahman, M.Vet.

NIK. 20838-ET

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR NECROSIS
FACTOR-alpha (TNF-a) PADA JARINGAN GINJAL TIKUS
DIABETIK YANG DIBERIKAN EKSTRAK DAUN *Tithonia
diversifolia***

Sigit Sa'ad Hibatullah

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun *Tithonia diversifolia* dalam menurunkan ekspresi TNF- α pada tikus yang mengalami diabetes melitus. Sampel yang digunakan adalah tikus wistar jantan, sebanyak 18 ekor, dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, setiap perlakuan terdapat 6 kali pengulangan. Setiap kelompok perlakuan mendapatkan rata – rata sebagai berikut, kelompok kontrol tanpa perlakuan (P0) dengan rata – rata 4.00, kelompok perlakuan negatif (P1) rata – rata di 7.33, dan kelompok perlakuan positif (P2) mendapatkan rata – rata di 3.67. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok P0 memiliki ekspresi TNF- α tertinggi, ditandai dengan intensitas pewarnaan yang kuat dan jumlah sel imunopositif yang lebih banyak. Sementara itu, kelompok P2 menunjukkan penurunan ekspresi TNF- α dibandingkan kelompok P1, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *Tithonia diversifolia* memiliki potensi dalam menurunkan respon inflamasi pada ginjal tikus diabetik. Pada uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai Asymp. Sig sebesar 0,136 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun *Tithonia diversifolia* dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada jaringan ginjal tikus model diabetes melitus, meskipun tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

Kata kunci : Diabetes melitus, TNF-a, imunohistokimia, ginjal, *Tithonia diversifolia*.

**IMMUNOHISTOCHEMICAL PROFILE OF TUMOR
NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α) IN THE KIDNEY
TISSUE OF DIABETIC RATS TREATED WITH *Tithonia*
diversifolia LEAF EXTRACT**

Sigit Sa'ad Hibatullah

ABSTRACT

This study aimed to determine the potential of Tithonia diversifolia leaf extract in reducing TNF- α expression in diabetic rat models. The samples consisted of 18 male Wistar rats, which were divided into three treatment groups, with six replications in each group. The mean values for each group were as follows: the control group without treatment (P0) had a mean of 4.00, the negative control group (P1) had a mean of 7.33, and the positive treatment group (P2) had a mean of 3.67. The results showed that the P1 group exhibited the highest TNF- α expression, as indicated by strong staining intensity and a higher number of immunopositive cells. Meanwhile, the P2 group demonstrated a reduction in TNF- α expression compared to the P1 group, suggesting that Tithonia diversifolia leaf extract has potential in reducing the inflammatory response in the kidneys of diabetic rats. The Kruskal–Wallis test yielded an Asymp. Sig value of 0.136 ($p > 0.05$), indicating that there was no statistically significant difference among the treatment groups. In conclusion, the administration of Tithonia diversifolia leaf extract was able to reduce TNF- α expression in the kidney tissue of diabetic rat models, although the reduction was not statistically significant.

Keywords: Diabetes mellitus, TNF- α , immunohistochemistry, kidney, Tithonia diversifolia.

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN

PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN
AKADEMIS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya Mahasiswa Universitas Wijaya Kusuma Surabaya:

Nama : Sigit Sa'ad Hibatullah

NPM : 22820166

Program Studi : S1 Pendidikan Dokter Hewan

Fakultas : Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya karya ilmiah saya berjudul :

Gambaran Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor-alpha Pada Jaringan Ginjal Tikus Diabetik yang Diberikan Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia*

Beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, dan mempublikasikannya di internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya maupun memberi royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Surabaya,

Pada tanggal :

Yang menyatakan



(Sigit Sa'ad Hibatullah)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul “Gambaran Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-a) Pada Jaringan Ginjal Tikus Diabetik Yang Diberikan Ekstrak Daun *Tithonia Diversifolia*”.

Maksud dan tujuan penulisan ini adalah untuk memenuhi syarat menyelesaikan studi dan mendapatkan gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian ini merupakan riset kolaborasi terintegrasi riset hibah fundamental Kemendiktisaintek 2025/2026.

Terwujudnya penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Prof. Dr. Ir. Rr. Nugrahini Susantina Wisnujati, M.Si. yang telah memberikan izin dan menerima penulis sebagai mahasiswa di Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya drh. Desty Apritya, M.Vet. yang telah membantu kelancaran pendidikan penulis di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

3. Dosen Pembimbing Utama Dr. drh. Rondius Solfaine, M.P., APVet. yang telah berkenan membimbing, memberikan petunjuk, nasehat, dan saran – saran serta melakukan perbaikan proposal hingga selesai.
4. Dosen Pembimbing Pendamping drh. Palestin, M.Imun. yang telah berkenan membimbing, memberikan petunjuk, nasehat, dan saran – saran serta melakukan perbaikan proposal hingga selesai.
5. Dosen Penguji drh. Muhammad Noor Rahman, M.Vet. yang telah meluangkan waktu, pikiran, saran, serta motivasi demi menyempurnakan proposal ini.
6. Seluruh dosen dan staf di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah membantu dan menyelesaikan studi
7. Kedua orang tua ayah Sining Subiyanto, S.Pt., M.M. dan ibu Kusminarti Indias, adik Ratu Adila, yang tidak pernah berhenti memberikan doa dan juga dukungan baik secara moril maupun secara materil.
8. Kakek saya Drs. H. Karlim dan kedua nenek saya Hartini (Almh.) dan Hj. Supatmi, yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada saya, untuk menyelesaikan pendidikan ini.

Kepada semua pihak keluarga, kerabat, teman seperjuangan, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Semoga Allah SWT. melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis dengan tulus ikhlas dalam menyelesaikan pendidikan ini. Aamiin YRA.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu kritik, dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi masyarakat dan semua pihak yang membaca. Aamiin

Surabaya, 15 Mei 2025

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR NECROSIS	I
GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR NECROSIS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan	6
1.4. Hipotesa	6
1.5. Manfaat	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Diabetes Melitus	7
2.1.1. Nefropati Diabetik.....	9
2.2. Ginjal.....	10
2.3. Imunohistokimia	12
2.4. TNF- α	13
2.6. Tithonia Diversifolia	15
2.7. Tikus Wistar	17
III. MATERI DAN METODE.....	18
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	18

3.2. Materi Penelitian	18
3.2.1. Alat Penelitian	18
3.2.2. Bahan Penelitian.....	18
3.3. Metode Penelitian	19
3.3.1. Jenis Penelitian.....	19
3.3.2. Variabel Penelitian	21
3.3.3. Teknik Pengambilan Sampel.....	21
3.4. Prosedur Penelitian	22
3.4.1. Adaptasi Tikus.....	22
3.4.2. Pembuatan Ekstrak Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	22
3.4.3. Induksi Diabetes Pada Tikus Wistar.....	23
3.4.4. Pemberian Ekstrak Daun <i>Tithonia Diversifolia</i>	23
3.4.5. Euthanasia Dan Pengambilan Organ Ginjal.....	24
3.4.6. Pemrosesan Jaringan	25
3.4.7. Embedding Jaringan.....	26
3.4.8. Pengirisian Jaringan	26
3.4.9. Staining (Pewarnaan) Imunohistokimia.....	27
3.4.10. Skoring Ekspresi TNF- α	28
3.4.11. Analisis Data	29
3.5. Kerangka Penelitian	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1. Hasil	32
4.1.1. Skoring Imunohistokimia Ekspresi TNF-a Pada Jaringan Ginjal	33
4.1.2. Hasil Analisis Uji Kruskal-Wallis	35
4.1.3. Grafik Ekspresi TNF-a.....	35
4.1.4. Gambaran Imunohistokimia Pada Setiap Kelompok Perlakuan	37
4.2. Pembahasan.....	40
4.2.1. Ekspresi TNF-a Pada Jaringan Ginjal Tikus Normal.....	40
4.2.2. Ekspresi TNF-a Pada Jaringan Ginjal Tikus Yang Diinduksi Alokasan 41	
4.2.3. Ekspresi TNF-a Pada Jaringan Ginjal Tikus Yang Diinduksi Alokasan dan Diberikan Ekstrak Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	42

4.2.4. Keterkaitan Hasil Imunohistokimia dengan Analisis Statistik.....	43
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
5.1. Kesimpulan	45
5.2. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Organ ginjal	12
Gambar 2.2 Foto TNF- α Pada Ginjal	15
Gambar 2.3 Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	17
Gambar 2.4 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur Wistar	18
Gambar 4.1 Grafik rata – rata ekspresi TNF-a pada jaringan ginjal tikus Wistar setiap kelompok perlakuan.....	35
Gambar 4.2 Ekspresi imunohistokimia TNF-a organ ginjal tikus kelompok (P0) terlihat endapan coklat pada area sekitar sel epitel tubulus dan glomerulus (panah merah) pembesaran (IHK, 400x).....	36
Gambar 4.3 Ekspresi imunohistokimia TNF-a organ ginjal tikus kelompok (P1) terlihat endapan coklat pada area sekitar sel epitel tubulus dan glomerulus (panah merah) pembesaran (IHK, 400x).....	37
Gambar 4.4 Ekspresi imunohistokimia TNF-a organ ginjal tikus kelompok (P2) terlihat endapan coklat pada area sekitar sel epitel tubulus dan glomerulus (panah merah) pembesaran (IHK, 400x).....	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Rata – rata skor IRS ekspresi TNF- α	33

DAFTAR SINGKATAN

1. TNF- α	= Tumor Necrosis Factor-alpha
2. TGF- β	= Transforming Growth Factor-Beta
3. IL	= Interleukin
4. RAAS	= Renin Angiotensin Aldosterone
5. pH	= potential of Hydrogen
6. DM	= Diabetes Melitus
7. ND	= Nefropati Diabetik
8. GLUT-1	= Glucose Transporter Type 1
9. RAL	= Rancangan Acak Lengkap
10. S1	= Imonopositif
11. S2	= Intensitas pewarnaan
12. P0	= Kelompok tanpa perlakuan
13. P1	= Kelompok perlakuan negatif
14. P2	= Kelompok perlakuan positif
15. IRS	= Immunoreactive score
16. IHK	= Imunohistokimia
17. DAB	= Diaminobenzidine
18. WHO	= World Health Organization
19. ADA	= American Diabetes Association
20. IDF	= International Diabetes Federation
21. ICA	= Islet Cell Antibody
22. NaCl	= Natrium Chloride
23. CMC-NA	= Carboxymethyl Cellulose
24. BNF	= Buffer Neutral Formalin
25. mg/dl	= miligram per desiliter
26. mg/kg BB	= miligram per kilogram Berat Badan