

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK *Tithonia diversifolia*
TERHADAP EKSPRESI IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α)
PADA TESTIS TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN ALOKSAN**

SKRIPSI



Oleh:

LINA APRIYANI TRI RAHAYU

NPM. 22820033

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA
2026**

HALAMAN JUDUL

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK *Tithonia diversifolia*
TERHADAP EKSPRESI IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α)
PADA TESTIS TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN ALOKSAN**

SKRIPSI

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

Oleh:

LINA APRIYANI TRI RAHAYU

NPM. 22820033

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA
2026**

HALAMAN PENGESAHAN

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK *Tithonia diversifolia*
TERHADAP EKSPRESI IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α)
PADA TESTIS TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN ALOKSAN**

Oleh:

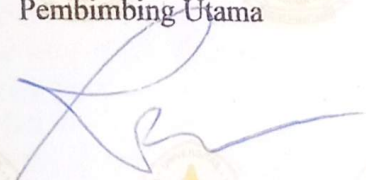
LINA APRIYANI TRI RAHAYU

NPM. 22820033

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

Menyetujui,
Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Dr. drh. Rondius Solfaine, MP., APVet
NIK. 10526-ET


drh. Reina Puspita Rahmaniar, M.Si
NIK. 15752-ET

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Wijaya Kusuma Surabaya


drh. Desty Apritya, M.Vet
Tanggal : 3 Juni 2026

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK *Tithonia diversifolia*
TERHADAP EKSPRESI IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α)
PADA TESTIS TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN ALOKSAN**

Lina Apriyani Tri Rahayu

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis ekspresi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) pada jaringan testis tikus Wistar model diabetes melitus yang diberi ekstrak daun *Tithonia diversifolia*, meliputi intensitas pewarnaan, luas area positif, dan jumlah sel positif TNF- α . Penelitian eksperimental laboratoris ini menggunakan metode imunohistokimia dengan tiga kelompok, yaitu kontrol (LKT), diabetes melitus yang diinduksi aloksan (LTA), dan diabetes melitus yang diberi ekstrak *Tithonia diversifolia* (LTB). Ekspresi TNF- α dinilai menggunakan metode *Immunoreactive Score* (IRS) dan dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* serta *Mann-Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan rerata skor IRS sebesar 4,83 pada LKT, 5,37 pada LTA, dan 3,87 pada LTB. Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p=0,498$; $p>0,05$). Meskipun demikian, kelompok LTB menunjukkan penurunan ekspresi TNF- α dibandingkan LTA. Disimpulkan bahwa diabetes melitus meningkatkan ekspresi TNF- α pada jaringan testis sebagai respons inflamasi, sedangkan pemberian ekstrak *Tithonia diversifolia* menurunkan ekspresi TNF- α meskipun belum signifikan secara statistik. Ekstrak ini berpotensi sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan, namun efeknya pada dosis yang digunakan belum optimal. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan variasi dosis, durasi pemberian, serta keamanan dan efektivitas ekstrak sebelum diaplikasikan sebagai terapi

Kata kunci: Diabetes melitus, TNF- α , testis, imunohistokimia, *Tithonia diversifolia*.

**THE EFFECT OF *Tithonia diversifolia* EXTRACT ON
THE IMMUNOHISTOCHEMISTRY EXPRESSION
OF *TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA* (TNF- α)
IN THE TESTES OF WISTAR RATS
(*Rattus norvegicus*) INDUCED
WITH ALLOXAN**

Lina Apriyani Tri Rahayu

ABSTRACT

This study aims to analyze the expression of *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) in the testicular tissue of Wistar rats as a model of diabetes mellitus given *Tithonia diversifolia* leaf extract, including staining intensity, positive area, and number of TNF- α positive cells. This laboratory experimental study used an immunohistochemical method with three groups, namely control (LKT), alloxan-induced diabetes mellitus (LTA), and diabetes mellitus given *Tithonia diversifolia* extract (LTB). TNF- α expression was assessed using the *Immunoreactive Score* (IRS) method and analyzed by the *Kruskal-Wallis* and *Mann-Whitney* tests. The results showed an average IRS score of 4.83 in LKT, 5.37 in LTA, and 3.87 in LTB. The *Kruskal-Wallis* test showed no significant difference between groups ($p=0.498$; $p>0.05$). However, the LTB group showed a decrease in TNF- α expression compared to LTA. It was concluded that diabetes mellitus increases TNF- α expression in testicular tissue as an inflammatory response, while administration of *Tithonia diversifolia* extract decreased TNF- α expression, although not statistically significant. This extract has potential as an anti-inflammatory and antioxidant agent, but its effects at the doses used were not optimal. Further research is recommended using variations in dosage, duration of administration, and the safety and effectiveness of the extract before its application as a therapy.

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

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa:

Nama : **LINA APRIYANI TRI RAHAYU**

NPM : 22820033

Telah melakukan perbaikan terhadap naskah Skripsi yang berjudul :

Efek Pemberian Ekstrak *Tithonia diversifolia* terhadap Ekspresi Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) pada Testis Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi dengan Aloksan

Sebagaimana yang disarankan oleh tim penguji pada tanggal 3 Juni 2026

Tim Penguji
Ketua

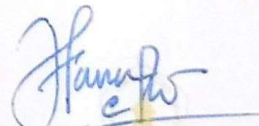


Dr. drh. Rondius Solfaine, MP., APVet
NIK. 10526-ET

Anggota,



drh. Reina Puspita Rahmانيar, M.Si
NIK. 15752-ET



drh. Hana Cipka Pramuda W, M.Vet
NIK. 20842-ET

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN

PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Lina Apriyani Tri Rahayu
NPM : 22820033
Program Studi : S1 Kedokteran Hewan
Fakultas : Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

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

Efek Pemberian Ekstrak *Tithonia diversifolia* terhadap Ekspresi Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) pada Testis Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi dengan Aloksan

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 akademik 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 : 3 Juni 2026

Yang menyatakan


IC1D2AOX056546237
(Lina Apriyani Tri Rahayu)

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT., yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Ekstrak *Tithonia Diversifolia* Terhadap Ekspresi Imunohistokimia *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α) pada Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi dengan Aloksan”.

Maksud dan tujuan penulisan ini adalah untuk memenuhi syarat menyelesaikan studi dan mendapatkan gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan di Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian ini merupakan Riset Fundamental Kolaborasi Terintegrasi dengan PKM Program 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 Susantinah Wisnujati, M.Si yang telah memberikan ijin dan menerima penulis sebagai mahasiswa di Fakultas Kedokteran Hewan 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. Dr. Ratna Widyawati drh., M.Vet., selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan (S-1) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah membantu penulis dalam memberikan arahan dan bimbingan selama menempuh perkuliahan di Fakultas Kedokteran Hewan.
4. Dr. drh. Rondius Solfaine, MP., APVet, selaku dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing, memberikan petunjuk, nasehat dan saran-saran, serta melakukan perbaikan skripsi hingga selesai.
5. drh. Reina Puspita Rahmaniar, M.Si. selaku dosen Pembimbing Pendamping yang telah membimbing, mengarahkan, memberi dorongan semangat dan mengoreksi skripsi ini dengan penuh kesabaran dan ketulusan.
6. drh. Hana Cipka Pramuda W., M.Vet selaku dosen Penguji yang telah meluangkan waktu, pemikiran, saran serta motivasi demi menyempurnakan skripsi.
7. Seluruh Dosen dan staf di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah membantu dalam menyelesaikan studi.
8. Kedua orang tua tercinta, Bapak Iman Legiman dan Ibu Dedeh Haeroni yang selalu memberikan dukungan, material, moral, semangat, doa dan kasih sayang yang luar biasa demi kelancaran dan kesuksesan anaknya.
9. Saudari-saudari tersayang, tercinta, Teh Indah Maulida dan Mutiara Destiyanti Anugrah yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih

sayang serta doa demi kelancaran dan kesuksesan dalam menempuh pendidikan.

10. Om, Tante, sepupu-sepupu dan keponakan-keponakan tersayang Ibu Yoyoh, Bpk Saepudin, Ka Ismi, Bang Ogi, Teh Uswatun, Bang Deni, Intan, Arkhan, Arrasya dan Khalid yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa demi kelancaran dan kesuksesan dalam menempuh pendidikan.
11. Diri sendiri, atas kerja keras, ketekunan, dan semangat dalam menyusun proposal penelitian ini.
12. Bapak Yunadir dan seluruh laboran yang terlibat di Laboratorium Riset Terpadu FKG UGM dan FK UGM yang telah menyediakan fasilitas, sarana penelitian, serta bantuan teknik selama pelaksanaan pembuatan preparate imunohistokimia.
13. Sahabat semasa sekolah menengah atas tersayang Dafika, Yuke, Leni yang selalu mendengarkan keluh kesah dalam mengerjakan skripsi dan memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi.
14. Sahabat tersayang Trifania, Meliani, Zizani, Eza yang selalu menemani dan memberikan dukungan selama perkuliahan.
15. Teman-teman IHK kelompok mickey mouse yaitu, Trifania, Imam, Maulana Adam yang telah mendukung, saling memberikan bantuan dan memberikan semangat selama menjalankan penelitian sehingga proposal ini dapat berjalan lancar.

Kepada semua pihak yang sudah membantu penulis selama ini yang tidak dapat penulis disebutkan 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.

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, 30 Agustus 2025

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI	vi
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	8
2.2 Diabetes Melitus	9
2.1.1 Hiperglikemia	12
2.3 Aloksan.....	13
2.4 Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i>)	13
2.4.1 Alkaloid	15
2.4.2 Terpenoid	16
2.4.3 Saponin	16

2.4.4	Tanin	17
2.4.5	Polifenol	17
2.5	Testis	18
2.6	Imunohistokimia	20
2.7	<i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i> (TNF- α)	23
III.	MATERI DAN METODE	25
3.1	Lokasi dan Waktu Penelitian	25
3.2	Materi Penelitian	25
3.2.1	Alat Penelitian	25
3.2.2	Bahan Penelitian	25
3.3	Metode Penelitian	26
3.3.1	Jenis Penelitian	26
3.3.2	Variabel Penelitian	28
3.3.3	Teknik Pengambilan Sampel	29
3.4	Prosedur Penelitian	29
3.4.1	Aklimatisasi Tikus Wistar	29
3.4.2	Pembuatan Ekstrak Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i>)	30
3.4.3	Induksi Diabetes	30
3.4.4	Pengukuran Kadar Glukosa Darah	30
3.4.5	Pemberian Ekstrak Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i>)	31
3.4.6	Euthanasia dan Pengambilan Organ Testis	31
3.4.7	Pemrosesan Jaringan	33
3.4.8	<i>Embedding</i> Jaringan	34
3.4.9	Pemotongan (<i>Sectioning</i>)	34
3.4.10	Pewarnaan Imunohistokimia	35
3.4.11	Skor Ekspresi TNF- α	37
3.5	Analisis Data	39
3.6	Kerangka Penelitian	40
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1	Hasil	41
4.1.1	Skoring IHK TNF- α Pada Jaringan Testis	41

4.1.2	Gambaran Imunohistokimia TNF- α pada Jaringan Testis	44
4.2	Pembahasan	51
4.2.1	Intensitas Pewarnaan TNF- α Pada Jaringan Testis	52
4.2.2	Luas Area Positif TNF- α Pada Jaringan Testis	53
4.2.3	Jumlah Sel Positif TNF- α Pada Jaringan Testis.....	53
V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
5.1	Kesimpulan.....	55
5.2	Saran	56
	DAFTAR PUSTAKA	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3. 1 Skoring Imunohistokimia	38
3. 2 Skor kombinasi IRS.....	39
4. 1 Hasil rata-rata skor ekspresi TNF- α pada jaringan testis.....	42
4. 2 Hasil signifikansi uji statistik ekspresi TNF- α	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) strain Wistar	9
2. 2 Tumbuhan Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i>).....	15
2. 3 Struktur Organ Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	19
2. 4 Struktur Histologi Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	20
2. 5 Hasil Pengecatan IHK Antibodi Anti-TNF- α pada Jaringan Testis Tikus.....	22
2. 6 Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis Tikus.	24
 4. 1 Diagram rata-rata ekspresi TNF- α pada jaringan testis	 43
4. 2 Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α testis LKT (IHK:100x).....	45
4. 3 Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α testis LKT (IHK: 400 $\times$).....	46
4. 4 Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α testis LTA (IHK:100 $\times$)	47
4. 5 Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α testis LTA (IHK: 400 $\times$)	48
4. 6 Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α testis LTB (IHK:100 $\times$)	49
4. 7 Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α testis LTB(IHK: 400 $\times$)	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Surat Keterangan Laboratorium Patologi dan Hasil Pemeriksaan IHK	65
2 Hasil Analisis Data <i>Kruskal Wallis</i>	68
3 Dokumentasi Penelitian	69
4 Sertifikat Uji Kelaiakan Etik	72
5 Sertifikat Uji Plagiasi	73

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan

ABP	:Androgen Binding Protein
ALP	:Alkaline Phosphatase
BTB	:Blood-Testis Barrier
CAT	:Catalase
CMC-Na	:Carboxymethyl Cellulose Sodium
DAB	:3,3'-Diaminobenzidine
DHEA	:Dehydroepiandrosterone
DHT	:Dihydrotestosterone
DM	:Diabetes Melitus
ER	:Estrogen Receptor
FFA	:Free Fatty Acid
GSH-Px	:Glutathione Peroxidase
HE	:Hematoxylin-Eosin
HIV/AIDS	:Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome
H ₂ O ₂	:Hidrogen Peroksida
HRP	:Horseradish Peroxidase
IGCNU	:Intratubular Germ Cell Neoplasia Unclassified
IHK	:Imunohistokimia
IL-1	:Interleukin-1
IL-1 β	:Interleukin-1 Beta
IL-6	:Interleukin-6
IRS	:Immunoreactive Score
LDH	:Lactate Dehydrogenase

MODY	:Maturity Onset Diabetes of the Young
NF- κ B	:Nuclear Factor Kappa Beta
PBS	:Phosphate Buffered Saline
PR	:Progesterone Receptor
RAL	:Rancangan Acak Lengkap
ROS	:Reactive Oxygen Species
SGPT	:Serum Glutamic Pyruvic Transaminase
SOD	:Superoxide Dismutase
TNF- α	:Tumor Necrosis Factor-Alpha