

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SITOKIN PRO-
INFLAMASI INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA JARINGAN
LIMPA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG
DIBERI EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia***

SKRIPSI



Oleh:

REYNARD SEFRAIM PUNI

NPM. 22820139

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

2026

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa:

Nama : REYNARD SEFRAIM PUNI

NPM : 22820139

Telah melakukan perbaikan terhadap naskah Skripsi yang berjudul:

**GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SITOKIN PRO-INFLAMASI
INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA JARINGAN LIMPA TIKUS WISTAR
(*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG DIBERI EKSTRAK DAUN *Tithonia
diversifolia*.**

Sebagaimana yang disarankan oleh tim penguji pada tanggal: 13 Juli 2026

Tim Penguji

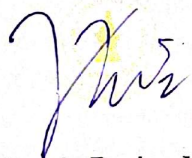
Ketua,



Dr. Rondius Solfaine, drh., MP., APVet

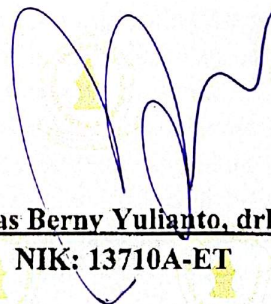
NIK: 10526-ET

Anggota,



drh. Kurnia Desiandura. M.Si

NIK: 20841-ET



Dr. Andreas Berny Yulianto, drh., M.Vet

NIK: 13710A-ET

HALAMAN PENGESAHAN
GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SITOKIN PRO-
INFLAMASI INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA JARINGAN
LIMPA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG
DIBERI EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*

Oleh:

REYNARD SEFRAIM PUNI

NPM. 22820139

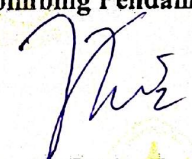
Skripsi ini telah memenuhi syarat ujian guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan telah disetujui oleh Komisi Pembimbing yang tertera di bawah ini :

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

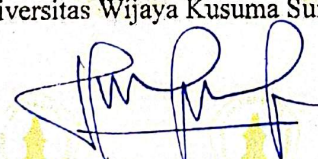
Pembimbing Pendamping,


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


drh. Kurnia Desiandura, M.Si
NIK: 20841-ET

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Wijaya Kusuma Surabaya


drh. Desty Apritya, M. Vet
NIK: 13711-ET

Tanggal: 16 Juli 2026

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Reynard Sefraim Puni
NPM : 22820139
Program Studi : Kedokteran Hewan
Fakultas : Fakultas Kedokteran Hewan

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

GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SITOKIN PRO-INFLAMASI INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA JARINGAN LIMPA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG DIBERI EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*

Berserta 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 memberikan royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Surabaya,

Pada tanggal : 27 September 2025

Yang menyatakan,



(Reynard Sefraim Puni)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan YME., yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SITOKIN PRO-INFLAMASI INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA JARINGAN LIMPA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG DIBERI EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*”** sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan mendapatkan gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

Terwujudnya penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih dan rasa hormat 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 Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya Desty Apritya, drh., M.Vet yang telah membantu kelancaran Pendidikan penulis di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
3. Dr. Rondius Solfaine, drh., MP., APVet selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan petunjuk, nasehat dan saran-saran, serta melakukan perbaikan skripsi hingga selesai.
4. drh. Kurnia Desiandura, M.Si selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing, mengarahkan, memberi dorongan semangat dan mengoreksi skripsi ini dengan penuh kesabaran dan ketulusan.

5. Dr. A. Berny Yulianto, drh., M. Vet selaku dosen Penguji yang telah meluangkan waktu, pemikiran, saran serta motivasi demi menyempurnakan skripsi ini.
6. drh. Palestin, M. Imun selaku dosen wali yang selalu memberikan pengarahan, masukan dan saran untuk akademik perkuliahan selama menjadi mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
7. Bapak Ibu Dosen dan Staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah memberikan ilmu dan kemudahan selama menempuh kuliah
8. Kedua orang tua tercinta Bapak Sudinto Puni dan Ibu Hesti Salama serta keluarga besar yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa dan selalu mendukung dalam kesuksesan penulis.
9. Serta teman teman seperjuangan penulis grup “Sirkel Sigma” terimakasih dukungannya selama ini.

Kepada semua pihak yang sudah membantu penulis selama ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Semoga Tuhan YME melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada pihak yang telah membantu penulis dengan tulus ikhlas dalam menyelesaikan pendidikan ini.

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.

Surabaya, 27 September 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesa	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Ciri Morfologi	6
2.1.2 Anatomi	7
2.1.3 Fisiologis	8
2.2 Limpa	9
2.2.1 Definisi umum	9
2.2.2 Struktur Histologi	11
2.3 Diabetes Melitus	14
2.3.1 Definisi Umum	14

2.3.2	Klasifikasi.....	15
2.3.3	Patofisiologi.....	16
2.3.3.1	Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 1	16
2.3.3.2	Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2	17
2.3.3.3	Patofisiologi Diabetes Mellitus Gestasional (DMG)....	17
2.3.4	Gejala Klinis	18
2.4	Aloksan	19
2.4.1	Definisi Umum	19
2.4.2	Mekanisme Kerja.....	20
2.5	<i>Tithonia diversifolia</i>	22
2.5.1	Klasifikasi & Morfologi	22
2.5.2	Kandungan.....	23
2.6	Interleukin-6 (IL-6)	26
2.6.1	Definisi Umum	26
2.6.2	Struktur	27
2.6.3	Mekanisme	28
2.6.4	Peran IL-6 pada Diabetes Melitus	29
2.6.5	Mekanisme Ekspresi Il-6 pada Limpa.....	31
2.6.6	Sel Positif IL-6	31
2.7	Imunohistokimia	32
2.7.1	Definisi Umum	32
2.7.2	Tipe Imunohistokimia.....	33
2.7.3	Skoring Imunohistokimia	34
2.7.3.1	Immunopositif	34
2.7.3.2	Intensitas Pewarnaan	35
III.	MATERI DAN METODE	37
3.1	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	37
3.2	Materi Penelitian.....	37
3.2.1	Alat Penelitian	37
3.2.2	Bahan Penelitian.....	37
3.3	Metode Penelitian	38

3.3.1 Jenis Penelitian	38
3.3.2 Variabel Penelitian.....	40
3.4 Teknik Pengambilan Sampel.....	40
3.5 Prosedur Penelitian	41
3.5.1 Adaptasi Hewan.....	41
3.5.2 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	41
3.5.3 Induksi Diabetes	42
3.5.4 Pemberian Ekstrak <i>Tithonia diversifolia</i>	42
3.5.5 Pengambilan Organ Limpa.....	43
3.5.6 Pembuatan Preparat Histopatologi	43
3.5.7 Pewarnaan Imunohistokimia	46
3.5.7.1 Scoring Ekspresi IL-6 dan TNF α	48
3.5.7.2 Scoring Immunopositif	49
3.5.7.3 Scoring Intensitas	50
3.5.7.4 Scoring Kombinasi (IRS Score).....	51
3.6 Kerangka Operasional Penelitian.....	52
3.7 Analisis Data.....	52
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	54
4.1 Hasil	54
4.1.1 Scoring Ekspresi IL-6 pada jaringan limpa.....	54
4.1.2 Gambar Hasil Imunohistokimia Organ Limpa	57
4.2 Pembahasan.....	60
4.2.1 Scoring IL-6 pada Jaringan Limpa Tikus Wistar	60
4.2.2 Hasil Analisis Gambar	63
V. KESIMPULAN DAN SARAN	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA.....	70
LAMPIRAN.....	79

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Karakteristik fisiologis tikus wistar	9
2.2 Lokasi dan ciri-ciri limpa di berbagai spesies	11
2.3 Ciri-ciri Intensitas Pewarnaan (Kim <i>et al.</i> , 2016).....	35
3.2 Skoring Immunopositif Imunohistokimia (s1)	50
3.2 Skoring Intensitas Imunohistokimia (s2).....	51
4.1 Nilai rerata skoring ekspresi imunohistokimia IL-6 pada jaringan limpa tikus.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>) dengan karakteristik bulu putih yang umum digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian biomedis	7
2.2 Ilustrasi anatomi tikus yang menunjukkan berbagai organ tubuh beserta, meliputi otak, mata, jantung, kulit, hati, limpa, saluran pencernaan, serta organ reproduksi	8
2.3 Gambaran makroskopis jaringan limpa berbentuk memanjang, datar, dan tipis dengan tepi melengkung. Panjang 3–5 cm, lebar ± 1 cm, berat 750–1350 mg ($\pm 0,2\%$ dari berat tubuh).....	10
2.4 Perbandingan struktur histologis limpa pada manusia (A, D), anjing (B, E), dan hamster (C, F) yang menunjukkan komponen utama seperti lymphoid follicle (LF), marginal zone (MZ), red pulp (RP), germinal center (GC), dan mantle zone (M).....	14
2.5 <i>Tithonia diversifolia</i> merupakan tanaman yang dapat tumbuh hingga setinggi 9 meter, dengan karakteristik bertunas dan mampu menyebar di permukaan tanah, yang memiliki kandungan saponin, tanin, dan flavonoid	23
2.6 Perbandingan dua jalur pensinyalan utama Interleukin-6 (IL-6): Pensinyalan Klasik yang terjadi melalui reseptor terikat membran (IL-6R) dan Pensinyalan Trans yang menggunakan reseptor terlarut (sIL-6R) ..	29
2.7 Gambar D: limpa tikus pewarnaan cokelat/oranye yang lebih gelap dan padat pada <i>Red Pulp</i> (RP) dan <i>Marginal Zone</i> (MZ). Gambar E: Gambar limpa tikus menunjukkan pewarnaan cokelat/oranye yang lebih terang dan renggang pada <i>Red Pulp</i> (RP) dan <i>Marginal Zone</i> (MZ)	33
2.8 Pembagian intensitas pewarnaan imunohistokimia menjadi tiga kategori berdasarkan tampilan visual: Weak (Intensitas Lemah); Moderate (Intensitas Sedang); dan Strong (Intensitas Kuat),	36
4.1 Grafik rata ekspresi IL-6 pada jaringan limpa tikus Wistar berdasarkan kelompok perlakuan.....	56

4.2	Gambaran Imunohistokimia IL-6 jaringan limpa pada kelompok kontrol (RE 1).....	57
4.3	Gambaran Imunohistokimia IL-6 jaringan limpa pada kelompok yang di induksi aloksan (RE 2).....	58
4.4	Gambaran Imunohistokimia IL-6 jaringan limpa pada kelompok yang di induksi aloksan dan ekstrak daun <i>Tithonia diversifolia</i> (RE 3).....	59

GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA SITOKIN PRO- INFLAMASI INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA JARINGAN LIMPA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) DIABETIK YANG DIBERI EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*

REYNARD SEFRAIM PUNI

ABSTRAK

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolik kronis yang memicu respons inflamasi sistemik melalui peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti Interleukin-6 (IL-6), yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan organ limfoid seperti limpa. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis gambaran imunohistokimia ekspresi IL-6 pada jaringan limpa tikus Wistar diabetik yang diberi terapi ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*). Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kelompok perlakuan: RE 1 (kontrol negatif), RE 2 (kontrol positif/induksi aloksan 100 mg/kg BB), dan RE 3 (induksi aloksan + ekstrak daun *Tithonia diversifolia* 100 mg/kg BB selama 7 hari). Parameter yang diamati meliputi persentase sel positif dan intensitas pewarnaan IL-6 pada jaringan limpa dengan metode skoring semi-kuantitatif *Immunoreactive Score* (IRS) menggunakan perbesaran mikroskop 400x. Hasil penelitian menunjukkan rerata skor IRS pada kelompok RE 1 adalah $2,33 \pm 1,52$, RE 2 sebesar $3,33 \pm 1,15$, dan RE 3 sebesar $4,00 \pm 0,00$. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi $P = 0,264$ ($P > 0,05$), yang berarti secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna pada ekspresi IL-6 di antara ketiga kelompok tersebut. Meskipun secara statistik tidak terdapat perbedaan nyata, hasil ini menunjukkan bahwa kelompok RE 3 memiliki tingkat konsistensi respon yang paling tinggi dengan nilai variabilitas data terendah ($SD = 0,00$). Hal tersebut mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak memberikan efek imunomodulasi yang stabil pada seluruh subjek uji dalam mencapai kategori skor moderat. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun *Tithonia diversifolia* tidak memberikan pengaruh yang signifikan secara statistik terhadap penurunan ekspresi sitokin IL-6 pada jaringan limpa tikus diabetik dalam durasi pemberian 7 hari. Disarankan untuk melakukan variasi dosis dan lama pemberian yang lebih panjang untuk penelitian selanjutnya.

Kata Kunci: Diabetes Melitus, IL-6, Imunohistokimia, Limpa, *Tithonia diversifolia*.

**IMMUNOHISTOCHEMICAL PROFILE OF PRO-
INFLAMMATORY CYTOKINE INTERLEUKIN-6 (IL-6) IN THE
SPLEEN TISSUE OF DIABETIC WISTAR RATS (*Rattus
norvegicus*) TREATED WITH *Tithonia diversifolia* LEAF
EXTRACT**

REYNARD SEFRAIM PUNI

ABSTRACT

*Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder that triggers systemic inflammatory responses through the elevation of pro-inflammatory cytokines such as Interleukin-6 (IL-6), which can lead to tissue damage in lymphoid organs like the spleen. This study aimed to analyze the immunohistochemical expression of IL-6 in the spleen tissue of diabetic Wistar rats treated with kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) leaf extract. The research followed a Completely Randomized Design (CRD) with three treatment groups: RE 1 (negative control), RE 2 (positive control/alloxan-induced at 100 mg/kg BW), and RE 3 (alloxan-induced + *Tithonia diversifolia* leaf extract at 100 mg/kg BW for 7 days). Parameters observed included the percentage of positive cells and the intensity of IL-6 staining in spleen tissue using the semi-quantitative Immunoreactive Score (IRS) method under 400x microscopic magnification. The results showed the mean IRS scores were 2.33 ± 1.52 for RE 1, 3.33 ± 1.15 for RE 2, and 4.00 ± 0.00 for RE 3. Statistical analysis using the Kruskal-Wallis test yielded a significance value of $P = 0.264$ ($P > 0.05$), indicating no statistically significant difference in IL-6 expression among the three groups. Although there was no statistically significant difference, these results indicate that the RE 3 group had the highest level of response consistency with the lowest data variability ($SD = 0.00$). This indicates that the extract provided a stable immunomodulatory effect in all test subjects, achieving a moderate score. In conclusion, the administration of *Tithonia diversifolia* leaf extract did not significantly affect the reduction of IL-6 cytokine expression in the spleen tissue of diabetic rats within a 7-day treatment period. Further research with variations in dosage and a longer administration duration is recommended.*

Keywords: *Diabetes Mellitus, IL-6, Immunohistochemistry, Spleen, *Tithonia diversifolia*.*