

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*
TERHADAP GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR–ALPHA (TNF- α)
PADA LIMPA TIKUS WISTAR DIABETES**

SKRIPSI



Oleh:
FARHAN ANALYANDI
NPM. 22820123

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

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*
TERHADAP GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR–ALPHA (TNF- α)
PADA LIMPA TIKUS WISTAR DIABETES**

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

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

Oleh:
FARHAN ANALYANDI
NPM. 22820123

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

2026

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*
TERHADAP GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α)
PADA LIMPA TIKUS WISTAR DIABETES**

Oleh:

FARHAN ANALYANDI
NPM. 22820123

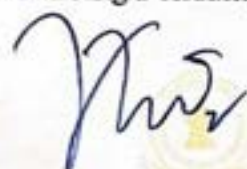
Skripsi ini telah memenuhi syarat ujian guna memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan telah disetujui
oleh Komisi Pembimbing yang tertera di bawah ini :

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 : 4 Juni 2026

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa:

Nama : **FARHAN ANALYANDI**

NPM : **22820123**

Telah melakukan perbaikan terhadap naskah skripsi yang berjudul :

Pengaruh Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia* Terhadap Gambaran Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor- α pada Limpa Tikus Wistar Diabetes.

Sebagaimana yang disarankan oleh tim penguji pada tanggal

Tim Penguji,

Ketua


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

NIK: 10526-ET

Anggota,


drh. Kurnia Desiandura, M.Si

NIK: 20841-ET


drh. Palestin, M.Imun

NIK: 21855-ET

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Tithonia diversifolia*
TERHADAP GAMBARAN IMUNOHISTOKIMIA
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α)
PADA LIMPA TIKUS WISTAR DIABETES**

Farhan Anlyandi

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia dan dapat menyebabkan gangguan inflamasi pada berbagai organ, termasuk limpa. Salah satu mediator inflamasi yang berperan penting dalam proses tersebut adalah Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α). Peningkatan ekspresi TNF- α pada jaringan limpa mencerminkan terjadinya aktivasi respons imun dan inflamasi akibat kondisi hiperglikemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *Tithonia diversifolia* terhadap gambaran imunohistokimia TNF- α pada limpa tikus Wistar model diabetes melitus. Penelitian menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap yang terdiri atas kelompok kontrol normal, kelompok diabetes, dan kelompok diabetes yang diberikan ekstrak daun *Tithonia diversifolia*. Kondisi diabetes diinduksi menggunakan aloksan, kemudian dilakukan pemeriksaan ekspresi TNF- α melalui metode imunohistokimia dengan penilaian semi-kuantitatif berdasarkan persentase sel positif dan intensitas pewarnaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok diabetes mengalami peningkatan ekspresi TNF- α pada jaringan limpa dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan pemberian ekstrak daun *Tithonia diversifolia* mampu menurunkan ekspresi TNF- α pada jaringan limpa tikus diabetes. Penurunan ekspresi tersebut diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, dan tanin yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan sehingga hipotesis alternatif (H1) diterima dan hipotesis nol (H0) ditolak. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *Tithonia diversifolia* berpotensi menurunkan ekspresi TNF- α pada limpa tikus Wistar model diabetes melitus.

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

***THE EFFECT OF *Tithonia diversifolia* LEAF EXTRACT ON TUMOR
NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α) IMMUNOHISTOCHEMICAL
EXPRESSION IN THE SPLEEN OF DIABETIC WISTAR RATS***

Farhan Analyandi

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease characterized by hyperglycemia and may induce inflammatory disorders in various organs, including the spleen. One of the inflammatory mediators that plays an important role in this process is Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α). Increased TNF- α expression in splenic tissue reflects the activation of immune and inflammatory responses caused by hyperglycemic conditions. This study aimed to determine the effect of *Tithonia diversifolia* leaf extract on the immunohistochemical expression of TNF- α in the spleen of diabetic Wistar rats. This experimental study used a completely randomized design consisting of a normal control group, a diabetic group, and a diabetic group treated with *Tithonia diversifolia* leaf extract. Diabetes was induced using alloxan, followed by examination of TNF- α expression through immunohistochemical methods using a semi-quantitative scoring system based on the percentage of positive cells and staining intensity. The results showed that the diabetic group exhibited increased TNF- α expression in splenic tissue compared to the control group, whereas administration of *Tithonia diversifolia* leaf extract reduced TNF- α expression in the spleen of diabetic rats. The decrease in expression was presumed to be associated with bioactive compounds such as flavonoids, saponins, and tannins, which possess anti-inflammatory and antioxidant activities. Statistical analysis demonstrated significant differences among treatment groups; therefore, the alternative hypothesis (H_1) was accepted and the null hypothesis (H_0) was rejected. In conclusion, *Tithonia diversifolia* leaf extract has the potential to reduce TNF- α expression in the spleen of diabetic Wistar rats.*

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

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Farhan Analyandi
NPM : 22810123
Program Studi : 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:

Pengaruh Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia* Terhadap Gambaran Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) pada Limpa Tikus Wistar Diabetes.

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

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Surabaya,

Pada tanggal: 4 Juni 2026

Yang menyatakan,



(Farhan Analyandi)

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia* Terhadap Gambaran Imunohistokimia Tumor Necrosis Factor–Alpha (TNF- α) pada Limpa Tikus Wistar Diabetes”.

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 integrasi riset hibah fundamental Kemendiktisatek 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. H. Widodo Ario Kentjono, dr. Sp.THT-KL (K), FICS yang telah memberikan izin 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. drh. Rondius Solfaine, MP., APVet selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, memberi nasehat, saran, dan petunjuk, serta membantu melakukan perbaikan pada skripsi ini hingga selesai.

4. drh. Kurnia Desiandura, M.Si, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing, mengarahkan, memberi dorongan semangat, dan mengoreksi skripsi ini hingga selesai.
5. drh. Palesntin, M.Imun, selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan saran demi menyempurnakan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen dan staf di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah membantu dalam menyelesaikan studi.
7. Kedua orang tua tercinta, Bapak Adek Andika Putra dan Almh. Ibu Fitri Yani yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa dan selalu mengorbankan segalanya demi kebahagiaan dan kesuksesan anaknya.

Kepada semua pihak yang sudah membantu penulis selama ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis dengan tulus dan 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, 4 Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT.....	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Hipotesa	3
1.5 Manfaat	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes Melitus.....	5
2.1.1 Etiologi	5
2.1.2 Tipe Diabetes Melitus.....	5
2.1.3 Gejala Umum	7
2.2 Tikus Putih (<i>Rattus Norvegicus</i>).....	8
2.2.1 Klasifikasi dan Karakteristik	8
2.2.2 Anatomi	10
2.2.3 Fisiologis	11

2.3	Limpa Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	12
2.3.1	Anatomi	12
2.3.2	Histologi	14
2.4	Aloksan	15
2.4.1	Pengertian Umum	15
2.4.2	Jenis Aloksan	16
2.4.3	Mekanisme Kerja Aloksan	16
2.5	Daun Tithonia diversifolia	17
2.5.1	Klasifikasi.....	17
2.5.2	Kandungan	18
2.5.2.1	Alkaloid	18
2.5.2.2	Flavonoid	19
2.5.2.3	Saponin	19
2.5.2.4	Tanin	20
2.5.2.5	Triterpenoid	20
2.6	Imunohistokimia	21
2.6.1	Penjelasan Umum	21
2.6.2	Tipe Imunohistokimia.....	22
2.6.2.1	Antibodi Sekunder Terkonjugasi HRP atau AP	23
2.6.2.2	Metode Peroxidase–Antiperoxidase (PAP) dan Alkaline Phosphatase–Anti-Alkaline Phosphatase (APAAP).....	23
2.6.2.3	Metode Avidin-Biotin Complex (ABC)	23
2.6.2.4	Metode Labeled Streptavidin-Biotin (LSAB)	24
2.6.2.5	Metode Polimer	24
2.6.2.6	Metode Catalyzed Signal Amplification (CSA)	24
2.6.3	Tumor Necrosis Factor-alfa (TNF- α)	25
2.6.3.1	Pengertian dan Fungsi TNF- α	25
2.6.3.2	Peran TNF- α pada Diabetes Melitus.....	26
2.6.3.3	TNF- α pada Limpa Tikus Model Diabetes.....	26
2.6.3.4	Mekanisme Ekspresi TNF- α pada Limpa	27

III. MATERI DAN METODE	28
3.1 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian	28
3.2 Materi Penelitian	28
3.2.1 Alat Penelitian	28
3.2.2 Bahan Penelitian	28
3.2.3 Hewan Coba	29
3.3 Metode Penelitian.....	30
3.3.1 Jenis Penelitian.....	30
3.3.2 Variabel Penelitian.....	30
3.4 Prosedur Penelitian	31
3.4.1 Persiapan Hewan Coba	31
3.4.2 Induksi Aloksan	31
3.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	31
3.4.4 Pemberian Ekstrak Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	32
3.4.5 Perlakuan Hewan Coba	33
3.4.6 Pengambilan Sampel Limpa	33
3.4.7 Pembuatan Preparat Histopatologi.....	34
3.4.8 Pewarnaan Imunohistokimia	36
3.5 Skoring Ekspresi TNF- α	38
3.6 Kerangka Penelitian	41
3.7 Analisis Data	42
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Hasil	43
4.1.1 Skoring Ekspresi TNF- α pada Jaringan Limpa.....	43
4.1.2 Interpretasi Gambaran Imunohistokimia	46
4.2 Pembahasan	50
4.2.1 Skoring Imunohistokimia TNF- α pada Jaringan Limpa Tikus Wistar.....	50
4.2.2 Hasil Analisis Gambar.....	54

V. KESIMPULAN DAN SARAN	60
5.1 Kesimpulan.....	60
5.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN	71

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Taksonomi Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).	10
2.2 Taksonomi <i>Tithonia diversifolia</i>	18
3.1 Skor imunopositif (s1) berdasarkan persentase sel yang menunjukkan pewarnaan positif pada masing-masing lapang pandang.	39
3.2 Skor intensitas (s2) yang menggambarkan kekuatan pewarnaan imunoreaktif.	40
4.1 Nilai rerata skoring ekspresi imunohistokimia TNF- α pada jaringan limpa tikus	43
4.2 Perbandingan ekspresi TNF- α antar kelompok perlakuan	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	9
2.2 Ilustrasi anatomi tikus	11
2.3 Stuktur Jaringan Limpa Tikus.....	13
2.4 Jaringan Limpa Tikus Normal dan Pulpa Putih dengan Arteri Sentralis di Tengahnya dan Pulpa Merah.....	14
2.5 Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	17
2.6 Irisan limpa yang diwarnai secara imunohistokimia TNF- α pada limpa tikus (IHC 100x)	22
4.1 Grafik rata-rata ekspresi TNF- α pada jaringan limpa tikus Wistar berdasarkan kelompok perlakuan.	45
4.2 Gambaran Imunihistokimia TNF- α jaringan limpa pada kelompok kontrol (LT 1)	46
4.3 Gambaran Imunihistokimia TNF- α jaringan limpa pada kelompok yang diinduksi aloksan (LT 2)	48
4.4 Gambaran Imunihistokimia TNF- α jaringan limpa pada kelompok yang diinduksi aloksan dan ekstrak daun <i>Tithonia</i> <i>diversifolia</i> (LT 3)	49