

EFEKTIVITAS VARIASI PENGECERAN ANTIBODI PRIMER TNF- α TERHADAP KUALITAS VISUAL PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA LIMPA TIKUS

DEVIA FIERLY AVANDA



PARAMEDIK VETERINER
SEKOLAH VOKASI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI LAPORAN AKHIR DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan akhir dengan judul “Efektivitas Variasi Pengenceran Antibodi Primer TNF- α Terhadap Kualitas Visual Pewarnaan Imunohistokimia Limpa Tikus” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir laporan akhir ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2026

Devia Fierly Avanda
J0415221090

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

DEVIA FIERLY AVANDA. “Efektivitas Variasi Pengenceran Antibodi Primer TNF- α Terhadap Kualitas Visual Pewarnaan Imunohistokimia Limpa Tikus”. Dibimbing oleh HERYUDIANTO VIBOWO.

Imunohistokimia (IHK) merupakan teknik pewarnaan khusus untuk mendeteksi antigen spesifik dalam jaringan melalui reaksi antigen-antibodi. Keberhasilan visualisasi IHK sangat dipengaruhi oleh konsentrasi antibodi primer yang digunakan. Antibodi primer TNF- α *brand* Abcam® tipe ab6671 hanya memiliki rekomendasi pengenceran untuk jaringan manusia, sehingga optimasi diperlukan untuk aplikasinya pada jaringan tikus. Penelitian ini bertujuan menentukan pengenceran antibodi primer TNF- α yang paling optimal pada jaringan limpa tikus. Penelitian menggunakan preparat jaringan limpa tikus dari arsip blok parafin dengan tiga variasi pengenceran, yaitu 1:50, 1:100, dan 1:200, masing-masing dibuat tiga ulangan. Intensitas pewarnaan dianalisis menggunakan perangkat lunak Fiji yang menghasilkan nilai *mean gray value*, kemudian dikonversi menjadi nilai *optical density* (OD) dan dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA*. Hasil menunjukkan nilai OD rata-rata sebesar 0,523 untuk pengenceran 1:50, 0,393 untuk 1:100, dan 0,221 untuk 1:200. Uji statistik tidak menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok ($p=0,060$). Pengenceran 1:100 menunjukkan keseimbangan terbaik secara kualitatif antara intensitas, spesifisitas, dan konsistensi pewarnaan, sehingga direkomendasikan sebagai pengenceran optimal untuk visualisasi TNF- α pada jaringan limpa tikus menggunakan antibodi Abcam® tipe ab6671.

Kata kunci: Antibodi primer, imunohistokimia, limpa, tikus, TNF- α

ABSTRACT

DEVIA FIERLY AVANDA. “Effectiveness of Primary Antibody TNF- α Dilution Variations on the Visual Quality of Immunohistochemical Staining of Rat Spleen”. Supervised by HERYUDIANTO VIBOWO.

Immunohistochemistry (IHC) is a specialized staining technique used to detect specific antigens in tissue through antigen-antibody reactions. The Abcam® Anti-TNF- α antibody (catalog number ab6671) only includes dilution recommendations for human tissue, so optimization is required for its application in rat tissue. This study aims to determine the most optimal dilution of the TNF- α primary antibody in rat spleen tissue. The study used rat spleen tissue sections from a paraffin block archive with three dilution variations: 1:50, 1:100, and 1:200, each with three replicates. Staining intensity was analyzed using the Fiji software, which generated mean gray values, which were then converted into optical density (OD) values and analyzed using a one-way ANOVA. The results showed an average OD value of 0,523 for the 1:50 dilution, 0,393 for 1:100, and 0,221 for 1:200. Statistical analysis did not reveal significant differences between groups ($p=0.060$). The 1:100 dilution demonstrated the best qualitative balance between staining intensity, specificity, and consistency; therefore, it is recommended as the optimal dilution for visualizing TNF- α in rat spleen tissue using the Abcam® antibody type ab6671.

Keywords: Immunohistochemistry, primary antibody, rat, spleen, TNF- α



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

©Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

EFEKTIVITAS VARIASI PENGECERAN ANTIBODI PRIMER TNF- α TERHADAP KUALITAS VISUAL PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA LIMPA TIKUS

DEVIA FIERLY AVANDA

Laporan Akhir
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Terapan pada
Program Studi Paramedik Veteriner

**PARAMEDIK VETERINER
SEKOLAH VOKASI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

IPB University
— Bogor Indonesia —

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji pada ujian Laporan Akhir: drh. Henny Endah Anggraeni, M.Sc.



Judul Laporan Akhir : Efektivitas Variasi Pengenceran Antibodi Primer TNF- α
Terhadap Kualitas Visual Pewarnaan Imunohistokimia
Limpa Tikus

Nama : Devia Fierly Avanda
NIM : J0415221090

Disetujui oleh

Pembimbing:
drh. Heryudianto Vibowo, M. Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
drh. Henny Endah Anggraeni, M. Sc
NPI. 201807197208122001

Dekan Sekolah Vokasi:
Dr. Ir. Aceng Hidayat, M. T
NIP. 196607171992031003



Tanggal Ujian: 15 Juli 2026

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah *subhanahu wa ta'ala* atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga laporan akhir ini dapat diselesaikan dengan baik. Laporan ini berjudul "Efektivitas Variasi Pengenceran Antibodi Primer TNF- α Terhadap Kualitas Visual Pewarnaan Imunohistokimia Limpa Tikus". Magang Industri ini telah dilaksanakan selama dua bulan, terhitung sejak tanggal 6 Oktober 2025 hingga 12 Desember 2025.

Terima kasih penulis ucapkan kepada drh. Heryudianto Vibowo, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing selama kegiatan magang industri berlangsung hingga proses penulisan laporan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Pimpinan Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) IPB yang telah memberikan izin untuk melaksanakan kegiatan penelitian, drh. Silvia Arin Prabandari, M.Si, APVet. selaku pembimbing lapang, serta *staff* laboratorium patologi anatomi drh. Dyah Setyawaty, Ibu Kartika, dan Mas Riyan Adiyana yang telah mendampingi serta membantu penulis dalam melakukan penelitian sehingga penulisan tugas akhir ini dapat dilaksanakan dengan baik. Ungkapan terima kasih juga kepada orangtua tercinta selaku ibu dan ayah atas doa dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis sangat terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga laporan ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan di Indonesia.

Bogor, Juli 2026

Devia Fierly Avanda



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	14
DAFTAR GAMBAR	14
DAFTAR LAMPIRAN	14
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Pewarnaan Imunohistokimia (IHK)	3
2.2 Morfologi Organ Limpa	3
2.3 <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i> (TNF- α)	4
2.4 Optimasi Pengenceran Antibodi Primer pada Imunohistokimia	4
2.5 Fiji (ImageJ®)	5
III METODE	6
3.1 Waktu dan Lokasi	6
3.2 Alat dan Bahan	6
3.3 Desain Penelitian	6
3.4 Alur Penelitian	6
3.5 Prosedur Kerja	7
3.6 Teknik Pengumpulan Data	11
3.7 Analisis Data	12
IV KEADAAN UMUM PERUSAHAAN	13
4.1 Sejarah	13
4.2 Kegiatan Lembaga	13
4.3 Struktur Organisasi	13
V HASIL DAN PEMBAHASAN	14
5.1 Gambaran Histologi Jaringan Limpa (Hematoksilin–Eosin)	14
5.2 Hasil Visualisasi Kualitas Pewarnaan Imunohistokimia	15
5.3 Analisis Kuantitatif Intensitas Pewarnaan	19
5.4 Faktor yang Mempengaruhi Pewarnaan IHK	21
VI SIMPULAN DAN SARAN	22
6.1 Simpulan	22
6.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	27
RIWAYAT HIDUP	33

DAFTAR TABEL

1	Skor penilaian kualitas pewarnaan IHK berdasarkan pengenceran antibodi	10
2	Parameter kualitas pewarnaan IHK TNF- α pada setiap kelompok pengenceran	18
3	Nilai mean <i>optical density</i> pewarnaan IHK TNF- α pada setiap kelompok pengenceran	19
4	Analisis deskriptif <i>optical density</i> antar kelompok pengenceran antibodi primer	20

DAFTAR GAMBAR

1	Skema penelitian	7
2	Struktur Organisasi Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) IPB	13
3	Pewarnaan HE limpa; (A) perbesaran 100 $\times$, (B) perbesaran 400 $\times$	14
4	Ekspresi TNF- α pada jaringan limpa tikus perbesaran 400 $\times$ dengan pengenceran 1:50; (A) ulangan 1, (B) ulangan 2, (C) ulangan 3	15
5	Ekspresi TNF- α pada Jaringan limpa tikus perbesaran 400 $\times$ dengan pengenceran 1:100; (A) ulangan 1, (B) ulangan 2, (C) ulangan 3	16
6	Ekspresi TNF- α pada jaringan limpa tikus perbesaran 400 $\times$ dengan pengenceran 1:200; (A) ulangan 1, (B) ulangan 2, (C) ulangan 3	17

DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil Analisis <i>Optical Density</i> dengan FIJI (Pengenceran 1:50)	29
2	Hasil Analisis <i>Optical Density</i> dengan FIJI (Pengenceran 1:100)	30
3	Hasil Analisis <i>Optical Density</i> dengan FIJI (Pengenceran 1:200)	31
4	Uji Normalitas	31
5	Uji <i>one-way</i> ANOVA	32
6	Uji Post Hoc (Tukey)	32