

**PENGARUH KONSENTRASI GLUKOSA TERHADAP PERTUMBUHAN
KULTUR SEL PRIMER PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) PADA
MEDIUM KULTUR TCM-199**

SKRIPSI

Oleh :
RAJULUL HADI
NIM. 210602110043



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**PENGARUH KONSENTRASI GLUKOSA TERHADAP PERTUMBUHAN
KULTUR SEL PRIMER PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) PADA
MEDIUM KULTUR TCM-199**

SKRIPSI

**Oleh:
RAJULUL HADI
NIM. 210602110043**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**PENGARUH KONSENTRASI GLUKOSA TERHADAP PERTUMBUHAN
KULTUR SEL PRIMER PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) PADA
MEDIUM KULTUR TCM-199**

SKRIPSI

Oleh:
RAJULUL HADI
NIM. 210602110043

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal:

Pembimbing I



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Pembimbing II



Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag
NIP. 197204202002121003



Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH KONSENTRASI GLUKOSA TERHADAP PERTUMBUHAN
KULTUR SEL PRIMER PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) PADA
MEDIUM KULTUR TCM-199**

SKRIPSI

Oleh:

**RAJULUL HADI
NIM. 210602110043**

**telah dipertahankan
di Depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Tanggal : 21 JUNI2025

Penguji Utama	: Kholifah Holil, M. Si	(.....)
	NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji I	: Fitria Nungky Harjanti, M. Sc	(.....)
	NIP. 19870528 202203 2 002	
Anggota Penguji II	: Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si	(.....)
	NIP. 19671113 199402 2 001	
Anggota Penguji III	: Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag	(.....)
	NIP. 19720420 200212 1 003	



**Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Program Studi Biologi,**

**Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur yang mendalam kepada Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, kesabaran, kekuatan, dan kemudahan yang telah diberikan sehingga segala proses penelitian dan penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini bukanlah hasil dari perjuangan pribadi semata, melainkan buah dari doa, dukungan, semangat, dan cinta dari berbagai pihak yang senantiasa hadir dalam setiap proses. Dengan penuh rasa hormat, cinta, dan kerendahan hati, karya ini kupersembahkan kepada:

1. Kedua orang tua penulis Bapak Azhari Yusuf, S.Ag dan Ibu Nur Azharina, S.Pd.I yang senantiasa memberikan *support* baik berupa doa, semangat, motivasi dan seluruh upaya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan dan bercita-cita menjadi manusia yang kelak dapat bermanfaat bagi khalayak luas.
2. Adik penulis, Fithra Alghifari dan Shafa Azzahra yang senantiasa menjadi motivasi penulis untuk bisa berkarya dan berusaha tidak hanya menjadi panutan yang baik tapi juga teman baik dalam segala urusan.
3. Seluruh keluarga besar, tanpa terkecuali yang sejak awal penulis menempuh dunia akademik baik formal maupun non-formal selalu memberikan contoh dan bimbingan sehingga penulis punya visi dan misi yang jelas dalam hidup, hingga akhir hayat
4. Ersya Oktavia selaku sosok istimewa yang selalu hadir dalam setiap proses penulis berkembang, punya hati selembut sutra dan sama istimewanya dengan keluarga penulis, sehingga membuat penulis yakin benar bahwa dalam hidup harus bisa menjadi pribadi yang bermanfaat tidak hanya bagi keluarga tapi juga bagi khalayak luas dan menjadi pribadi yang berpendidikan.
5. Rekan-rekan seperjuangan PKL KMUTT Thailand, teman-teman Newcleus, IPPMA dan seluruh teman yang tidak kalah pentingnya tapi tidak dapat disebutkan satu persatu.

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا , إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.

QS. Al-Insyirah: 5-6

"Jadilah mata air yang jernih, yang bisa memberikan kehidupan bagi sekitarmu" .

Prof. Dr. Ing. H. Bacharuddin Jusuf Habibie

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rajulul Hadi
NIM : 210602110043
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Glukosa Terhadap Pertumbuhan Kultur Sel Primer Pankreas Tikus (*Rattus Norvegicus*) Pada Medium Kultur TCM-199

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan penelitian, pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 03 Juni 2025
Yang membuat pernyataan,



Hadi
NIM. 210602110043

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka di perkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah menganugrahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul "Pengaruh Konsentrasi Glukosa Terhadap Pertumbuhan Kultur Sel Primer Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Pada Medium Kultur TCM-199". Tidak lupa shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. Yang telah menegakkan agama Islam yang terpatri hingga akhir zaman. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu menyelesaikan skripsi ini, terkhusus kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Hj. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Kepala Program Studi Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
5. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si selaku pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
6. Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
7. Kholifah Holil, M.Si dan Fitria Nungky Haryanti, M.Sc selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran, serta bimbingan yang konstruktif demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
8. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

Semoga segala kebaikan yang diberikan oleh beberapa pihak tersebut kepada penulis mendapatkan balasan kebaikan dari Allah SWT. Penulis masih melakukan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini, Oleh karena itu, penulis meminta maaf atas kesalahan yang dilakukan penulis dan berharap adanya kritik dan saran yang membangun sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat dijadikan referensi demi pengembangan ke arah yang lebih baik. Semoga Allah Swt. senantiasa melimpahkan rahmat dan rida-Nya kepada kita semua. Aamiin.

Malang, 4 Juni 2025

Penulis

Pengaruh Konsentrasi Glukosa Terhadap Pertumbuhan Kultur Sel Primer Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Pada Medium Kultur TCM-199

Rajulul Hadi, Retno Susilowati, Munirul Abidin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh konsentrasi glukosa terhadap pertumbuhan pada kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*. Hiperglikemia kronis pada diabetes melitus diketahui dapat merusak sel beta pankreas dan mempengaruhi pertumbuhan sel. Penelitian ini menggunakan empat kelompok perlakuan: kontrol tanpa induksi glukosa dan tiga kelompok perlakuan dengan konsentrasi glukosa 5 mM, 15 mM, dan 25 mM. Kultur sel primer pankreas tikus dilakukan pada media TCM 199 dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37°C. Parameter yang dianalisis meliputi viabilitas sel, konfluensi, dan sitotoksitas menggunakan metode Analisis *image* dengan ImageJ, dan *Microtetrazolium* (MTT) Assay. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan glukosa dengan konsentrasi 5 mM (P1) memberikan peningkatan rerata viabilitas sel pankreas tertinggi ($0,616 \pm 0,014$) dibandingkan dengan kontrol ($0,434 \pm 0,010$). Namun, induksi konsentrasi glukosa 15 mM (P2) dan 25 mM (P3) tidak menunjukkan peningkatan viabilitas, dan justru menimbulkan penurunan mendekati kontrol. Persentase konfluensi menunjukkan peningkatan linear seiring konsentrasi glukosa, namun diduga dipengaruhi faktor teknis pada proses *generate software* ImageJ. Uji parameter sitotoksitas juga tidak menunjukkan efek toksik yang signifikan pada induksi glukosa, hal ini ditandai dengan nilai persentase sitotoksitas bernilai minus pada semua kelompok perlakuan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi glukosa yang rendah (5 mM) berpotensi meningkatkan viabilitas sel pankreas, sedangkan konsentrasi lebih tinggi menunjukkan efek sebaliknya. Penelitian ini memberikan dasar awal untuk pengembangan model *in vitro* glukotoksitas dan dapat digunakan dalam uji skrining senyawa antidiabetik berbasis sel.

Kata kunci : *Rattus norvegicus*, sel pankreas, glukotoksitas, pertumbuhan,

The Effect of Glucose Concentration on The Growth of Primary Pancreatic Cell Cultures of Rats (*Rattus norvegicus*) in TCM-199 Medium

Rajulul Hadi, Retno Susilowati, Munirul Abidin

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of glucose concentration on the growth in primary pancreatic cell cultures of rats (*Rattus norvegicus*) under in vitro conditions. Chronic hyperglycemia in diabetes mellitus is known to damaging pancreatic beta cells. Four treatment groups were used: a control group without glucose induction and three treatment groups with glucose concentrations of 5 mM, 15 mM, and 25 mM. The parameters analyzed included cell viability, confluence, and cytotoxicity, using ImageJ-based image analysis and the MTT (Methylthiazol Tetrazolium) assay. The results showed that 5 mM glucose treatment (P1) produced the highest average cell viability (0.616 ± 0.014) compared to the control group (0.434 ± 0.010). However, higher glucose concentrations of 15 mM (P2) and 25 mM (P3) did not enhance viability and instead showed a decline approaching control levels. The confluence percentage appeared to increase linearly with glucose concentration, although this may have been influenced by technical factors during image processing using ImageJ. Cytotoxicity analysis also indicated no significant toxic effects from glucose induction, as evidenced by negative cytotoxicity percentage values across all treatment groups. In conclusion, a low glucose concentration (5 mM) may enhance the viability of pancreatic cells, whereas higher concentrations tend to reduce it. This research provides a foundational model for in vitro glucotoxicity studies and can serve as a platform for screening potential antidiabetic compounds at the cellular level.

Keywords: *Rattus norvegicus*, pancreatic cells, glucotoxicity, growth

(Rattus norvegicus) تأثير تركيز الجلوكوز على نمو مزرعة الخلايا الأولية للبنكرياس في الفئران TCM-199 في وسط الزرع

راجول الحادي، ريتنو سوسيلوواتي، منير العابدين

قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية، مالانغ

الملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم تأثير تركيز الجلوكوز على مستوى الإجهاد التأكسدي في خلايا بنكرياسية أولية لفئران (تحت ظروف مما (ROS) من المعروف أن فرط السكر المزمن في داء السكري يرفع من إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية (*in vitro*) مخبرية يسبب الإجهاد التأكسدي ويؤدي إلى تلف خلايا بيتا البنكرياسية. شملت التجربة أربع مجموعات: مجموعة ضابطة بدون تحريض بالجلوكوز، وثلاث مجموعات معالجة بتركيزات مختلفة من الجلوكوز (5 ملي مول، 15 ملي مول، و25 ملي مول). تم تحليل المعايير MTT لتحليل الصور وطريقة اختبار ImageJ التالية: حيوية الخلية، التغلغل الخلوي، والسمية الخلوية، باستخدام برنامج حققت أعلى متوسط في حيوية الخلايا (0.014 ± 0.616) (P1) أظهرت النتائج أن المعالجة بتركيز جلوكوز 5 ملي مول مقارنة بالمجموعة الضابطة (0.010 ± 0.434). بينما لم تُظهر التركيزات الأعلى (15 و25 ملي مول) تحسناً في الحيوية بل انخفضت نحو المستوى الضابط. أما نسبة التغلغل الخلوي فقد بدت في تزايد طردي مع التركيز، رغم احتمال تأثرها بعوامل تقنية أثناء تحليل الصور. كما لم تظهر نتائج السمية الخلوية أي تأثير سام ذي دلالة إحصائية، حيث كانت النسبة سالبة في جميع المجموعات المعالجة. نستنتج من ذلك أن تركيز الجلوكوز المنخفض (5 ملي مول) قد يعزز حيوية الخلايا البنكرياسية، في حين أن التركيزات الأعلى تميل إلى تقليلها. ويمثل هذا البحث نموذجاً أولياً لدراسة السمية الجلوكوزية في المختبر، ويمكن استخدامه كأداة أولية لاختبار المركبات المضادة لمرض السكري على مستوى الخلية.

خلايا البنكرياس، السمية الجلوكوزية، الإجهاد التأكسدي، *Rattus norvegicus*: الكلمات المفتاحية

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Batasan Masalah.....	6
1.6 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Prinsip Keseimbangan dalam Islam.....	7
2.1.1 Prinsip keseimbangan dalam Islam.....	7
2.2 Glukotoksisitas	9
2.2.1 Definisi	9
2.2.2 Mekanisme Biokimia Glukotoksisitas	10
2.2.3 Dampak Glukotoksisitas Pada Sel Pankreas	11
2.3 Sel Pankreas	12
2.3.1 Anatomi dan Fungsi Sel Pankreas.....	12
2.3.2 Kerusakan Sel Pankreas Pada Diabetes Mellitus	13
2.4 Uji Viabilitas Sel.....	14
2.4.1 Konsep Viabilitas Sel.....	14
2.4.2 Viabilitas Sel Pada Glukotoksisitas	15
2.5 Uji Konfluensi dengan <i>Software ImageJ</i>	16
2.5.1 Definisi dan Konsep Konfluensi	16
2.5.2 Analisis Gambar Menggunakan <i>Software ImageJ</i>	17
2.5.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Konfluensi	18

2.6	Uji Sitotoksitas dengan MTT Assay.....	18
2.6.1	Prinsip dan Mekanisme Uji MTT	18
2.6.2	Parameter Sitotoksitas	19
BAB III METODE PENELITIAN.....		23
3.1	Rancangan Penelitian	23
3.2	Variabel Penelitian	24
3.3	Waktu dan Tempat	24
3.4	Alat dan Bahan.....	24
3.4.1	Alat	24
3.4.2	Bahan.....	25
3.5	Prosedur Penelitian.....	25
3.5.1	Persiapan Sampel Penelitian	25
3.5.2	Preparasi Ruang	25
3.5.3	Preparasi Alat dan Bahan.....	26
3.5.4	Pembuatan Media Stok Kultur Sel.....	26
3.5.5	Isolasi Sel Pankreas <i>Rattus norvegicus</i>	27
3.5.6	Kultur sel dan perlakuan	27
3.5.7	Prosedur MTT Assay untuk uji viabilitas dan sitotoksitas	28
3.6	Uji Konfluensi menggunakan <i>software</i> ImageJ.....	28
3.7	Analisis Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		30
4.1	Hasil Efek Perlakuan Induksi Glukosa Terhadap Viabilitas Sel Pankreas	32
4.2	Hasil Efek Perlakuan Induksi Glukosa Terhadap Konfluensi Kultur Sel Pankreas	36
4.3	Hasil Efek Perlakuan Induksi Glukosa Terhadap Sitotoksitas Kultur Sel Pankreas.....	38
4.4	Hasil Penelitian Ditinjau Dari Sudut Pandang Islam	40
BAB V PENUTUP.....		43
5.1	Kesimpulan	43
5.1	Saran	44
DAFTAR PUSTAKA		45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 4. 1 <i>Kultur sel pankreas Rattus norvegicus</i>	31
Gambar 4. 2 Kurva standart nilai absorbansi viabilitas	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4. 1 Rerata Nilai Absorbansi Viabilitas	32
Tabel 4. 2 Rerata Persentase Luas Area Konfluens	36
Tabel 4. 3 Persentase Sitotoksitas Sel Pankreas setelah Perlakuan Glukosa	38

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia akibat defisiensi insulin, resistensi insulin, atau keduanya (Brownlee, 2020). Hiperglikemia kronis, yang sering tidak terkontrol, memicu gangguan pada pertumbuhan, viabilitas, dan fungsi dari sel pankreas (Halliwell & Gutteridge, 2019). Kondisi ini mengganggu keseimbangan homeostasis seluler dan dapat menyebabkan kerusakan pada protein, lipid, dan DNA (Sies, 2021). Dampak dari kondisi glukosa tinggi ini sangat signifikan pada sel pankreas, terutama sel beta yang bertanggung jawab untuk produksi insulin (Brownlee, 2020).

Konsumsi glukosa yang berlebihan dapat menyebabkan efek merugikan pada sel, mempengaruhi pertumbuhan dan memicu berbagai penyakit metabolik, termasuk diabetes melitus (Asmat, 2016). Hal ini menunjukkan pentingnya keseimbangan dalam pola makan untuk menjaga kesehatan tubuh (Halliwell & Gutteridge, 2019). Islam menegaskan prinsip keseimbangan ini dalam QS. Al-A'raf [7]: 31:

وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ۝

"Dan makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebihan."

Menurut Tafsir Al-Misbah (Shihab, 2002), ayat ini mengajarkan bahwa berlebihan, termasuk dalam konsumsi makanan, dapat berdampak buruk bagi tubuh. Dalam konteks penelitian ini, ayat tersebut relevan dengan problematika

glukotoksisitas yang disebabkan konsumsi berlebihan (Asmat , 2016). Penelitian ini bertujuan untuk memahami dampak glukosa tinggi pada sel pankreas, mendukung ajaran islam untuk menjaga keseimbangan demi kesehatan terutama sel pankreas.

Sel pankreas, khususnya sel beta, memiliki peran krusial dalam mengatur kadar glukosa darah dengan memproduksi dan melepaskan insulin. Sel-sel ini sangat rentan terhadap glukotoksisitas, suatu kondisi di mana paparan glukosa tinggi menyebabkan kerusakan dan disfungsi seluler. Dampak glukotoksisitas dapat memicu penurunan viabilitas sel, mengganggu pertumbuhan, dan memicu apoptosis atau dediferensiasi sel beta, yang mengurangi kapasitas sel dalam memproduksi insulin dan memperburuk hiperglikemia (Jimenez, 2020).

Penelitian *in vitro* memungkinkan eksplorasi dampak glukosa tinggi dalam kondisi yang lebih terkontrol dan terfokus dibandingkan dengan *in vivo*, sehingga dapat mempelajari mekanisme glukotoksisitas secara spesifik (Furman, 2020). Model *in vitro* juga memungkinkan penyesuaian variabel eksperimental, seperti konsentrasi glukosa dan durasi paparan, untuk mengevaluasi efek langsungnya pada sel-sel yang diteliti (Sies, 2021).

Meskipun banyak studi tentang glukotoksisitas menggunakan *cell line*, relevansi hasilnya terhadap kondisi fisiologis nyata masih terbatas karena karakteristik *cell line* yang tidak sepenuhnya merepresentasikan sel primer (Shyr, 2019). Penggunaan sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) memungkinkan evaluasi yang lebih realistis terkait efek glukotoksisitas, khususnya dalam mengukur parameter seperti viabilitas, konfluensi, dan sitotoksisitas (Halban, 2014). Penggunaan sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) dalam penelitian

lebih mencerminkan kondisi biologis alami dibandingkan *cell line*, yang sering kali memiliki karakteristik yang telah berubah akibat proses *immortalization* (Lablanche, 2011). Konsentrasi glukosa 25 mM digunakan untuk memicu glukotoksisitas menggunakan kultur *cell line* 1.1B4 dan secara signifikan menyebabkan disfungsi dan kematian sel pankreas. (Vasu, 2013). Hal ini menunjukkan korelasi dengan Fiorello (2020) bahwa kondisi normoglikemik ditandai dengan konsentrasi glukosa 5,5 mM dan hiperglikemia pada konsentrasi 25 mM. Dengan demikian penelitian ini dilakukan dengan perlakuan 5 mM, 15 mM serta 25 mM, dengan perlakuan induksi glukosa 15 mM bertujuan untuk memberikan informasi terkait perlakuan efek yang lebih deskriptif.

Dalam beberapa penelitian terdahulu perlakuan induksi glukosa tinggi pada konsentrasi 25-75 mM dapat menyebabkan penghambatan viabilitas (pertumbuhan) dan proliferasi sel primer (Hadi, 2020). Hal ini mendukung penelitian (Weil, 2009) bahwa induksi glukosa konsentrasi tinggi memiliki efek merugikan bagi banyak jenis sel, termasuk sel pankreas. Belum ada penelitian yang secara langsung mengevaluasi pengaruh konsentrasi glukosa pada sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) dalam konteks viabilitas, konfluensi, dan sitotoksisitas. Oleh karena itu, penentuan konsentrasi glukosa yang optimal dan efeknya pada sel primer merupakan kontribusi baru dalam memahami mekanisme glukotoksisitas dan potensinya dalam mengembangkan model penelitian yang lebih akurat (Sottero, 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh berbagai konsentrasi glukosa terhadap viabilitas, konfluensi dan sitotoksisitas pada sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*. Parameter yang akan diukur mencakup

konfluensi menggunakan *software* ImageJ, dan uji viabilitas & sitotoksitas menggunakan MTT assay (Ohkawa, 2019). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar untuk studi lebih lanjut terkait glukotoksitas dan kontribusi glukosa tinggi terhadap viabilitas, konfluensi, dan adaptasi sel pankreas, serta memperkuat pemahaman tentang respon seluler yang relevan dengan kondisi hiperglikemia.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi glukosa terhadap konfluensi kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) pada media TCM-199 ?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi glukosa terhadap viabilitas kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) pada media TCM-199 ?
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi glukosa terhadap tingkat sitotoksitas kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) pada media TCM-199 ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi glukosa terhadap konfluensi kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*)
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi glukosa terhadap viabilitas kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*)
3. Mengetahui pengaruh konsentrasi glukosa terhadap tingkat sitotoksitas kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*)

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Konsentrasi glukosa tinggi akan menurunkan viabilitas dan konfluensi sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) secara signifikan.
2. Konsentrasi glukosa tinggi akan meningkatkan tingkat sitotoksitas sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Manfaat Teoretis : Penelitian ini diharapkan dapat memperkaya pengetahuan tentang efek glukotoksitas pada viabilitas, konfluensi, dan sitotoksitas kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*), khususnya dalam konteks dampak glukosa berlebih pada pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel. Hasil penelitian ini juga dapat menjadi referensi untuk pengembangan studi terkait diabetes dan mekanisme kerusakan sel pankreas akibat hiperglikemia.
2. Manfaat Praktis : Memberikan dasar bagi penggunaan dosis glukosa optimal untuk penelitian *in vitro* pada kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) di masa depan, terutama yang berfokus pada pengembangan terapi antidiabetik dan strategi pencegahan komplikasi.
3. Manfaat Metodologi : Menyediakan metode yang lebih spesifik dan akurat dalam mengukur viabilitas, konfluensi, dan uji sitotoksitas isolat kultur sel primer pankreas menggunakan kombinasi *software* ImageJ, dan *MTT assay*.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah :

1. Fokus pada pengaruh Glukotoksisitas : Penelitian ini dibatasi pada pengamatan pengaruh glukotoksisitas melalui paparan glukosa tinggi pada kultur sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) yang dikultur pada media TCM 199 dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37°C.
2. Penggunaan isolat sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) tanpa spesifik pada tipe sel alfa, sel beta, sel delta, sel polipeptida (PP).
3. Pengamatan viabilitas, konfluensi, dan tingkat sitotoksisitas sel sebagai parameter : pengukuran efektivitas perlakuan dibatasi pada parameter viabilitas, konfluensi, tingkat sitotoksisitas sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*). Data lain seperti perubahan ekspresi gen atau protein terkait stres oksidatif dan apoptosis tidak termasuk dalam penelitian ini.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Prinsip Glukotoksisitas dan Keseimbangan dalam Islam

2.1.1 Prinsip keseimbangan dalam Islam

Islam adalah agama yang mengajarkan nilai-nilai dan prinsip keseimbangan, baik dalam akidah, ibadah, maupun perilaku sehari-hari, termasuk pola makan dan kesehatan. Islam memberikan pedoman yang kuat untuk menjaga keseimbangan dalam hidup, termasuk dalam pola makan dan menjaga kesehatan tubuh. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Qamar [54]: 49 :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ٤٩

"Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran."

Menurut Tafsir Al-Misbah (Shihab, 2002), ayat ini menjelaskan bahwasanya Allah SWT menciptakan segala sesuatu di alam semesta dengan ukuran, kadar dan keseimbangan yang sempurna, baik berdasarkan bentuk, struktur maupun fungsinya. Kelebihan glukosa misalnya akan meningkatkan kadar glukosa darah hingga melampaui ambang fisiologis tubuh, memicu serangkaian proses biokimia yang berdampak negatif bagi tubuh (Robertson, 2018). Selain itu, Nabi Muhammad SAW bersabda:

"Tidaklah anak Adam memenuhi suatu bejana yang lebih buruk daripada perutnya. Cukuplah bagi anak Adam beberapa suap untuk menegakkan punggungnya. Jika harus lebih, maka sepertiga untuk makanannya, sepertiga untuk minumannya, dan sepertiga untuk nafasnya." (HR. Ahmad, At-Tirmidzi, Ibnu Majah).

Hadis ini menjelaskan tentang pembagian perut menjadi tiga bagian merupakan pedoman praktis untuk menjaga keseimbangan dalam pola makan. Menurut penjelasan Ibnu Rajab dalam *Jami'ul Ulum wal Hikam*, hadis ini menunjukkan pentingnya menghindari kebiasaan makan berlebihan yang dapat membahayakan tubuh. Nabi SAW menganjurkan untuk makan secukupnya guna menjaga kesehatan dan produktivitas. Buku "*Prophetic Medicine*" oleh Ibn Qayyim Al-Jawziyyah menjelaskan bahwa mengisi perut secara berlebihan melemahkan fungsi organ dan menyebabkan penyakit. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Isra [17]: 26-27:

وَلَا تُبَدِّرْ تَبَدِيرًا ۚ ٢٦ إِنَّ الْمُبَدِّرِينَ كَانُوا إِخْوَانَ الشَّيْطَانِ ۗ وَكَانَ الشَّيْطَانُ لِرَبِّهِ كَفُورًا ۚ ٢٧

"Dan janganlah kamu menghambur-hamburkan (hartamu) secara boros. Sesungguhnya pemboros-pemboros itu adalah saudara setan, dan setan itu sangat ingkar kepada Tuhannya."

Menurut Tafsir Ibnu Katsir, ayat ini menegaskan bahwa pemborosan, termasuk bentuk perilaku konsumtif berlebihan adalah bentuk kelalaian manusia terhadap amanah dari Allah SWT yang berupa tubuh yang sehat. Dalam hal makanan dan minuman, perilaku berlebihan dapat menyebabkan gangguan metabolik yang serius. Dalam konsep kesehatan manusia pula ada nilai keseimbangan yang harus dijaga, mencakup kadar nutrisi, glukosa dan segala jenis hal yang dikonsumsi manusia untuk menjaga kehidupan dan Kesehatan. Begitu pula halnya Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan ayat ini mengandung ajaran kebijaksanaan Allah SWT dalam menetapkan hukum dan syariatnya kepada manusia, sehingga tidak ada satu pun hal yang Allah SWT ciptakan tanpa tujuan dan sia-sia.

Dengan demikian, perilaku berlebihan dalam konsumsi makanan, seperti glukosa berlebih, memiliki dampak langsung terhadap integritas tubuh manusia.

Dalam Islam, menjaga keseimbangan adalah kewajiban moral, dan pencegahan kerusakan tubuh merupakan bentuk ibadah, sebagaimana diajarkan dalam QS. Al-Isra [17]: 26-27, Al- Qamar [54]: 49, Al-A'raf [7]: 31 dan hadits. Hal ini selaras dengan penelitian yang menyoroti bagaimana konsentrasi glukosa tinggi dapat memengaruhi Kesehatan dan fungsi sel, menunjukkan pentingnya menjaga keseimbangan demi kesehatan optimal.

2.2 Glukotoksisitas

2.2.1 Definisi

Glukotoksisitas adalah kondisi toksik yang dialami oleh sel akibat paparan kronis terhadap konsentrasi glukosa yang tinggi. Glukotoksisitas berperan penting dalam patogenesis diabetes melitus, terutama dalam membantu kerusakan sel beta pankreas dan resistensi insulin. Pada tingkat molekuler, glukotoksisitas mengacu pada akumulasi efek negatif dari glukosa tinggi terhadap metabolisme energi seluler, yang memicu disfungsi seluler, perubahan pada viabilitas sel, dan dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Brownlee, 2020; Muoio & Newgard, 2019).

Dalam konteks diabetes mellitus tipe 2, hiperglikemia kronis menyebabkan pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs), yang berinteraksi dengan reseptor *Receptor for Advanced Glycation Endproducts* (RAGE) untuk memicu jalur inflamasi NF- κ B. Interaksi ini mempercepat kerusakan sel beta pankreas, menghambat sekresi insulin, dan memicu apoptosis (Kaneto, 2015). Selain itu, glukotoksisitas menyebabkan disfungsi mitokondria, sehingga mengganggu produksi energi selular dan mempengaruhi viabilitas (DeFronzo & Ferrannini, 2015).

Glukotoksisitas tidak hanya merusak sel beta pankreas tetapi juga mempengaruhi jaringan perifer melalui perubahan sensitivitas insulin, sehingga menyebabkan resistensi insulin dan komplikasi diabetes lainnya (Zhang, 2019).

2.2.2 Mekanisme Biokimia Glukotoksisitas

Glukotoksisitas merupakan dampak toksik dari paparan kadar glukosa tinggi terhadap sel, terutama pada diabetes tipe 2. Hiperglikemia menyebabkan peningkatan metabolisme glukosa melalui jalur glikolisis, menghasilkan akumulasi produk antara yang dapat menyebabkan disfungsi dan kerusakan pada seluler, termasuk DNA, lipid, dan protein, sehingga berpotensi memicu kematian sel (apoptosis) pada sel beta pankreas (Brownlee, 2020).

Paparan glukosa tinggi juga memicu pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs) yang berinteraksi dengan reseptor *Receptor for Advanced Glycation Endproducts* (RAGE) pada permukaan sel. Interaksi ini mengaktifkan jalur inflamasi seperti *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B), yang meningkatkan ekspresi sitokin inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) dan *Interleukin-6* (IL-6), memperparah kerusakan sel beta pankreas dan resistensi insulin (Muio & Newgard, 2019). Selain itu, glukotoksisitas mempengaruhi fungsi mitokondria melalui kelebihan substrat dari siklus Asam Trikarboksilat (TCA), yang menyebabkan kebocoran elektron pada rantai transpor elektron dan menghasilkan ROS dalam jumlah besar. Kondisi ini mengurangi kemampuan mitokondria menghasilkan energi yang cukup untuk fungsi normal sel (DeFronzo & Ferrannini, 2015).

Dalam jangka panjang, glukotoksisitas merusak jalur sinyal insulin, terutama jalur PI3K-Akt. Gangguan ini menurunkan translokasi GLUT4 ke

membran, menghambat pengambilan glukosa oleh sel, dan mempertahankan kronisitas hiperglikemia (Kaneto, 2015).

2.2.3 Dampak Glukotoksisitas Pada Sel Pankreas

Glukotoksisitas memiliki dampak yang signifikan pada sel pankreas, terutama pada sel beta yang berfungsi menghasilkan insulin. Dalam kondisi kronik hiperglikemia, paparan glukosa tinggi dapat merusak komponen seluler penting seperti mitokondria dan membran sel. Kerusakan ini mengganggu fungsi sel beta pankreas, memicu kematian sel (apoptosis) dan penurunan sekresi insulin. Hal ini menyebabkan gangguan pengaturan glukosa dalam darah dan memperburuk kondisi diabetes tipe 2 (Brownlee, 2020; Muoio & Newgard, 2019).

Pembentukan AGEs akibat glukosa tinggi juga memicu kerusakan sel pankreas. AGEs berikatan dengan reseptor RAGE pada sel beta, yang mengaktifkan jalur inflamasi melalui NF- κ B dan meningkatkan pelepasan sitokin inflamasi seperti TNF- α dan IL-6. Proses ini resistensi insulin dan mengganggu mekanisme pemulihan sel beta (Kaneto, 2015; DeFronzo & Ferrannini, 2015). Penurunan jumlah sel beta pankreas juga dapat mengurangi kemampuan tubuh untuk memproduksi insulin yang cukup, membantu mengontrol glukosa darah pada pasien diabetes tipe 2 (Zhang, 2019).

Kerusakan yang lebih lanjut pada sel pankreas akibat glukotoksisitas berhubungan dengan disfungsi mitokondria, yang mempengaruhi produksi energi dalam sel. Ketika sel beta pankreas mengalami disfungsi mitokondria, kapasitas untuk mengaktifkan jalur pensinyalan insulin menurun, ketidakmampuan sel untuk merespons glukosa secara efisien (Brownlee, 2020).

2.3 Sel Pankreas

2.3.1 Anatomi dan Fungsi Sel Pankreas

Pankreas adalah organ penting dalam tubuh yang terletak di bagian belakang perut, tepatnya di antara duodenum dan limpa. Organ ini memiliki dua fungsi utama, yaitu sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Sebagian besar jaringan pankreas adalah eksokrin, yang terdiri dari sel-sel asinar yang menghasilkan enzim pencernaan yang dibutuhkan untuk mencerna protein, lemak, dan karbohidrat. Enzim-enzim ini kemudian disalurkan ke usus kecil melalui saluran pankreas untuk proses pencernaan (Bailey, 2018; OpenStax, 2020). Sementara itu, fungsi endokrin pankreas dilakukan oleh *Islets of Langerhans*, yang hanya terdiri dari sekitar 1-2% dari total jaringan pankreas. Pulau kecil ini terdiri dari beberapa tipe sel, yang masing-masing menghasilkan hormon penting.

Sel alfa yang memproduksi hormon glukagon, yang berfungsi meningkatkan kadar glukosa darah dengan merangsang hati untuk melepaskan glukosa yang disimpan (Bailey, 2018). Sel beta, yang memproduksi insulin, hormon utama yang mengatur penyerapan gula oleh sel tubuh, menurunkan kadar gula darah (OpenStax, 2020). Sel delta menghasilkan somatostatin, yang berfungsi mengatur pelepasan insulin dan glukagon untuk menjaga keseimbangan glukosa darah (Britannica, 2024). Sel PP menghasilkan polipeptida pankreas yang berperan dalam pengaturan enzim pencernaan dan metabolisme energi.

Peran sel beta pankreas sangat penting dalam pengendalian kadar glukosa darah, dan kerusakan atau disfungsi pada sel ini dapat menyebabkan diabetes melitus. Pada diabetes tipe 1, kerusakan pada sel beta akibat serangan autoimun menyebabkan penurunan produksi insulin, sementara pada diabetes tipe 2, sel beta

biasanya terganggu karena resistensi insulin yang berkepanjangan (Muoio & Newgard, 2019). Kerusakan pada pankreas, baik pada fungsi eksokrin maupun endokrin, dapat berkontribusi pada gangguan metabolik seperti diabetes, di mana gangguan produksi dan regulasi insulin mempengaruhi seluruh tubuh (Bailey, 2018).

2.3.2 Kerusakan Sel Pankreas Pada Diabetes Mellitus

Kerusakan sel pankreas, khususnya pada sel beta pankreas, merupakan salah satu mekanisme utama dalam perkembangan diabetes mellitus, baik tipe 1 maupun tipe 2. Pada diabetes tipe 2, kerusakan ini disebabkan oleh paparan glukosa tinggi yang berlangsung lama, yang mengarah pada glukotoksisitas dan dapat merusak sel beta pankreas. Ketika glukosa tinggi terakumulasi dalam sel, ia merusak komponen seluler seperti mitokondria, membran sel, dan DNA, yang menyebabkan disfungsi dan kematian sel beta melalui apoptosis atau nekrosis (Brownlee, 2020; Muoio & Newgard, 2019).

Paparan berlebihan terhadap glukosa dan asam lemak bebas juga mempengaruhi jalur pensinyalan insulin dalam sel pankreas, mengganggu produksi dan sekresi insulin. Kerusakan sel beta pankreas yang disebabkan oleh glukotoksisitas membantu keadaan resistensi insulin, yang mempercepat proses perkembangan diabetes dan komplikasi terkait. Penurunan jumlah sel beta pankreas yang berfungsi menurunkan kemampuan tubuh untuk memproduksi insulin yang cukup, mengaktifkan kontrol glukosa darah dan meningkatkan risiko komplikasi seperti nefropati dan retinopati diabetik (DeFronzo & Ferrannini, 2015).

Selain itu hiperglikemia mengaktifkan jalur inflamasi, termasuk pengaktifan reseptor RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End Products*) oleh AGEs, yang menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi dan mempengaruhi respon terhadap insulin (Kaneto, 2015). Akumulasi AGEs dalam pankreas meningkatkan kerusakan dan membantu kondisi disfungsi sel beta, dan mempercepat perkembangan penyakit diabetes tipe 2 (Song, 2022). Kerusakan sel beta pankreas yang berkepanjangan ini berpengaruh pada pengendalian glukosa darah dan membuka jalan untuk perkembangan komplikasi vaskular dan non-vaskular pada diabetes, seperti penyakit jantung, penyakit ginjal, dan neuropati (Zhang, 2019).

2.4 Uji Viabilitas Sel

2.4.1 Konsep Viabilitas Sel

Viabilitas sel mengacu pada kemampuan sel untuk mempertahankan fungsinya dan terus berkembang dalam lingkungan yang diberikan. Ini merujuk pada proporsi sel hidup dalam suatu kultur, yang dapat diukur dengan berbagai teknik untuk menilai kesehatan sel secara fisiologis dan metabolik. Dalam konteks penelitian diabetes dan glukotoksisitas, viabilitas sel menjadi parameter utama untuk menilai kerusakan atau perbaikan sel pankreas yang terpapar kondisi hiperglikemia atau perlakuan obat (Brownlee, 2020; Muoio & Newgard, 2019).

Salah satu cara untuk mengukur viabilitas sel adalah dengan menggunakan *MTT assay*, dimana aktivitas enzim mitokondria dalam sel yang hidup menghasilkan formazan yang dapat diukur secara spektrofotometri. Ini memberi indikasi langsung tentang jumlah sel yang aktif secara metabolik. Selain itu, penggunaan pewarnaan untuk sel hidup dan mati juga dapat dilakukan, di mana pewarna seperti calcein-AM digunakan untuk menilai integritas membran sel,

sementara propidium iodide digunakan untuk menandai sel yang sudah mati, memberikan gambaran yang jelas mengenai viabilitas sel dalam kultur (Kern, 2014; Welch, 2013).

Viabilitas sel sangat penting dalam studi diabetes, karena kerusakan pada sel beta pankreas yang terpapar glukosa tinggi (glukotoksisitas) dapat menyebabkan penurunan fungsionalitas sel dan berkontribusi pada kerusakan jangka panjang. Dengan menilai viabilitas sel, kita dapat menentukan apakah perlakuan dengan ekstrak tanaman atau terapi lainnya dapat memperbaiki kerusakan ini atau bahkan melindungi sel pankreas dari efek buruk glukosa tinggi (Muoio & Newgard, 2019).

2.4.2 Viabilitas Sel Pada Glukotoksisitas

Glukotoksisitas mengacu pada kerusakan sel yang disebabkan oleh paparan glukosa tinggi dalam jangka panjang, yang merupakan ciri utama diabetes tipe 2. Kondisi ini mempengaruhi viabilitas sel, terutama pada sel beta pankreas yang bertanggung jawab untuk produksi insulin. Pada tingkat molekuler, glukotoksisitas menyebabkan kerusakan komponen penting dalam sel, seperti membran sel, protein, dan mitokondria (Brownlee, 2020; Muoio & Newgard, 2019).

Kerusakan yang disebabkan oleh glukotoksisitas dapat mengakibatkan disfungsi sel pankreas dan penurunan viabilitas sel secara signifikan. Hal ini terjadi melalui beberapa mekanisme, termasuk gangguan pada jalur pensinyalan insulin, dan aktivasi jalur inflamasi yang memengaruhi proses pemulihan sel beta pankreas. (Kaneto, 2015). Proses ini juga menyebabkan penurunan kemampuan sel untuk mempertahankan homeostasis glukosa, memperburuk resistensi insulin,

dan meningkatkan kadar glukosa darah secara terus-menerus, yang berujung pada peningkatan kerusakan lebih lanjut (DeFronzo & Ferrannini, 2015).

Dalam penelitian terkait glukotoksisitas, MTT assay sering digunakan untuk menilai viabilitas sel. MTT Assay ini mengukur aktivitas metabolik sel yang hidup dengan mengamati pengurangan MTT menjadi formazan, yang hanya terjadi pada sel yang masih hidup dan aktif secara metabolik. Penurunan viabilitas yang signifikan pada sel yang terpapar glukosa tinggi menunjukkan bahwa glukotoksisitas dapat menyebabkan kerusakan sel yang mempengaruhi kemampuan sel pankreas untuk bertahan dan berfungsi dengan baik (Zhang, 2019). Selain itu, glukotoksisitas juga mempengaruhi kemampuan sel untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan metabolik, yang dapat berimplikasi pada kerusakan sel yang lebih lanjut jika tidak ada intervensi yang dapat mengurangi atau memperbaiki kerusakan tersebut (Song, 2022).

2.5 Uji Konfluensi dengan *Software ImageJ*

2.5.1 Definisi dan Konsep Konfluensi

Konfluensi adalah parameter yang menggambarkan persentase area dalam sebuah wadah kultur jaringan yang ditempati oleh sel-sel yang melekat. Konsep ini penting untuk menentukan fase pertumbuhan sel, sehingga eksperimen dapat dilakukan pada kondisi yang tepat. Dalam praktiknya, konfluensi digunakan untuk mengevaluasi kepadatan populasi sel sebelum melanjutkan ke perlakuan lain, seperti pemanenan atau perlakuan eksperimen tertentu (Lee, 2020).

Konfluensi tidak hanya berfungsi sebagai indikator fase pertumbuhan, tetapi juga membantu menghindari pengulangan eksperimen yang tidak perlu akibat kesalahan dalam memperkirakan tingkat kepadatan sel. Ketepatan penentuan

konfluensi sering kali bergantung pada pengalaman peneliti, dimana peneliti pemula cenderung menghadapi tantangan lebih besar dalam memastikan tingkat konfluensi, terutama jika berhadapan dengan sel yang memiliki morfologi beragam (Lee, 2020; Jaccard, 2014)

2.5.2 Analisis Gambar Menggunakan *Software ImageJ*

Software analisis gambar seperti ImageJ digunakan untuk mengevaluasi tingkat konfluensi sel secara efisien dan akurat. Proses ini biasanya melibatkan pengambilan gambar dari kultur sel pada waktu tertentu, di mana *software* akan mengidentifikasi area yang tertutup oleh sel berdasarkan intensitas piksel atau fitur lain dalam gambar. Hasilnya adalah persentase konfluensi, yang mencerminkan tingkat pertumbuhan atau kepadatan sel dalam kultur (Chaudhry, N. 2021).

ImageJ adalah perangkat lunak pemrosesan gambar berbasis Java yang banyak digunakan dalam penelitian biologi, termasuk analisis konfluensi sel. Software ini memungkinkan penghitungan area yang ditempati oleh sel dalam gambar mikroskopik secara otomatis dan presisi. Dengan fitur seperti *Thresholding* dan *Particle Analysis*, pengguna dapat memisahkan sel dari latar belakang dan menghitung persentase area yang tertutup sel, mewakili tingkat konfluensi (Abramoff, 2004; Collins, 2007).

Melalui ekstensi seperti Bio-Formats, ImageJ mendukung berbagai format file gambar, sehingga meningkatkan fleksibilitas dalam analisis. Plugin tambahan, seperti *Cell Counter* atau *Confluency Calculator*, membantu pengguna untuk menghitung konfluensi lebih cepat dan mengurangi kesalahan akibat analisis manual (Collins, 2007; Smith, 2021).

2.5.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Konfluensi

Konfluensi sel dalam kultur dapat dipengaruhi oleh berbagai perlakuan, termasuk perubahan media, penambahan senyawa tertentu, atau paparan kondisi lingkungan seperti suhu dan tingkat oksigen. Perlakuan ini memengaruhi pertumbuhan, proliferasi, dan penyebaran sel di dalam wadah kultur. Sebagai contoh, pada erlakuan dengan senyawa farmakologis tertentu, konfluensi dapat meningkat atau menurun tergantung pada efek biologis senyawa tersebut terhadap siklus sel dan viabilitasnya (Kepp, 2011).

Perubahan media kultur juga berperan penting dalam memengaruhi konfluensi. Media yang kaya akan nutrisi mendorong proliferasi sel yang lebih cepat, meningkatkan konfluensi hingga mencapai monolayer penuh. Sebaliknya, media yang kekurangan nutrisi atau tanpa penggantian teratur dapat menyebabkan penurunan konfluensi akibat kematian sel atau henti siklus sel (Jaccard, 2014; Lam, 2016).

2.6 Uji Sitotoksitas dengan MTT Assay

2.6.1 Prinsip dan Mekanisme Uji MTT

MTT assay adalah metode kolorimetrik yang digunakan secara luas untuk menilai viabilitas sel, proliferasi, atau sitotoksitas berdasarkan aktivitas metabolik sel. Prinsip uji ini didasarkan pada kemampuan enzim oksidoreduktase mitokondria dalam sel hidup untuk mereduksi senyawa MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) menjadi kristal formazan yang tidak larut. Dalam kultur sel, larutan MTT yang berwarna kuning akan berubah menjadi formazan berwarna ungu, yang hanya terjadi pada sel dengan aktivitas metabolik tinggi. Oleh karena itu, jumlah kristal formazan yang

terbentuk mencerminkan jumlah sel hidup dalam kultur (Ghasemi, 2021; Liu, 1997).

Proses uji MTT melibatkan penambahan larutan MTT ke kultur sel, diikuti dengan inkubasi selama 2–4 jam untuk memungkinkan reduksi MTT menjadi formazan. Setelah inkubasi, kristal formazan dilarutkan menggunakan pelarut seperti dimethyl sulfoxide (DMSO), dan larutan ini diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 570 nm. Semakin tinggi absorbansi yang terdeteksi, semakin tinggi jumlah sel hidup atau metabolik aktif dalam kultur tersebut (Gold Biotechnology, 2019; Mosmann, 1983).

Metode ini memiliki banyak keunggulan, termasuk sensitivitas tinggi terhadap perubahan metabolisme seluler, serta kemampuan untuk memberikan data kuantitatif yang akurat tentang viabilitas atau proliferasi sel. Namun, uji ini juga memiliki keterbatasan, seperti ketergantungan pada aktivitas metabolik jenis sel tertentu, sehingga hasilnya mungkin tidak sepenuhnya mencerminkan jumlah sel hidup jika aktivitas metaboliknya bervariasi. Selain itu, hasil *MTT assay* juga dapat dipengaruhi oleh perlakuan eksperimental tertentu yang mengubah aktivitas enzim oksidoreduktase tanpa memengaruhi viabilitas secara langsung (Liu, 1997; Ghasemi, 2021).

2.6.2 Parameter Sitotoksitas

Sitotoksitas merujuk pada efek toksik suatu senyawa atau perlakuan terhadap sel, yang dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Parameter sitotoksitas dinilai berdasarkan pengurangan viabilitas sel atau penurunan aktivitas metabolik, yang menunjukkan sejauh mana perlakuan memengaruhi

kesehatan atau kemampuan sel untuk bertahan hidup. Dalam konteks MTT assay, sitotoksitas diukur melalui pembentukan kristal formazan, di mana jumlah kristal ini mencerminkan tingkat aktivitas metabolik sel. Penurunan absorbansi pada hasil uji MTT menunjukkan peningkatan tingkat sitotoksitas dari perlakuan tertentu (Ghasemi, 2021; Mosmann, 1983). Hubungan antara sitotoksitas dan perlakuan dalam penelitian ini mencakup evaluasi dampak glukotoksitas pada sel pankreas yang dipapar konsentrasi glukosa tinggi. Hiperglikemia kronis dapat memengaruhi integritas membran sel, mitokondria, dan DNA, yang semuanya memengaruhi hasil sitotoksitas. (Liu, 1997; Gold Biotechnology, 2019).

MTT assay memberikan informasi kuantitatif tentang tingkat sitotoksitas berdasarkan perbedaan absorbansi antar kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini, perbedaan yang signifikan pada absorbansi antara kontrol (sel tanpa perlakuan glukosa) dan kelompok perlakuan dengan glukosa menunjukkan sejauh mana glukosa dapat meningkatkan efek toksik dari glukotoksitas. Penggunaan konsentrasi glukosa yang berbeda memungkinkan pengamatan apakah peningkatan konsentrasi berhubungan dengan peningkatan sitotoksitas atau penurunan viabilitas sel (Ghasemi, 2021; Mosmann, 1983).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Pengaruh konsentrasi glukosa terhadap pertumbuhan kultur primer sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan penelitian eksperimental kuantitatif dan deskriptif kualitatif. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan desain *posttest-only control group* yang terdiri atas kontrol serta tiga kelompok perlakuan konsentrasi dengan 4 kali ulangan pada masing-masing perlakuan, antara lain :

1. Kontrol

Kelompok kontrol yaitu kelompok isolat sel pankreas tanpa induksi glukosa. Kelompok ini merepresentasikan kondisi normal sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*).

2. Perlakuan 1 (P1)

Kelompok perlakuan pertama yaitu kelompok isolat sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi induksi glukosa 5 mM.

3. Perlakuan 2 (P2)

Kelompok perlakuan kedua yaitu kelompok isolat sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi induksi glukosa 15 mM.

4. Perlakuan 3 (P3)

Kelompok perlakuan ketiga yaitu kelompok isolat sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi induksi glukosa 25 mM.

3.2 Variabel Penelitian

Penelitian menggunakan tiga variabel yang terdiri dari :

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian glukosa 5, 15 dan 25 mM.
2. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah viabilitas, konfluensi, dan tingkat sitotoksitas pada kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*).
3. Variabel terkontrol yaitu kultur sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) neonatal dengan media kultur sel yaitu *Tissue Culture Medium 199 (TCM-199)* yang diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37°C.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2025 di Laboratorium Kultur Jaringan Hewan dan Laboratorium Genetika & Biomolekuler, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Penelitian menggunakan alat-alat sebagai berikut : *Laminar Air Flow*, Inkubator CO₂ 5%, mikroskop inverted, oven, *Automatic Cell Counter*, autoklaf, timbangan analitik, *tissue culture disk*, *plate culture (96 well F-Base)*, sentrifus, *hot plate stirel*, mikro pipet 20-200 µl dan 100-1000 µl (Biored), tube sentrifus 15 ml, botol tutup ulir (scot), *filter single use 0.22 µl (Onemad)*, sat bedah, *blue tip* dan *yellow tip*, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, *beaker glass*, *cover glass*,

hand glove, masker, penutup kepala, kertas label, tisu, aluminium foil, bunsen, korek dan karet.

3.4.2 Bahan

Penelitian menggunakan bahan-bahan sebagai berikut : isolat kultur sel primer neonatal pankreas tikus (*Rattus norvegicus*), reagen MTT, alkohol 70%, media TCM 199 , DMSO, *Phospat Buffer Saline* (PBS), *Fetal Bovine Serum* (FBS), Glukosa, *penicillin*, *streptomycin*, *DI water*, *tripan blue*, NaCl fisiologis (98%), es balok dan aquades, *methanol absolut*, wapol dan tepol.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan isolat pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) umur 0-7 hari (Huang, 2018). Dalam penelitian ini setiap variabel atau parameter diberi ulangan sebanyak empat kali ulangan setiap perlakuan dan kontrol. Hal ini sesuai dengan minimal faktor statistika dengan rumus $P(n-1) \geq 15$ (Zweifach, , 2024).

3.5.2 Preparasi Ruang

Proses preparasi ruang dilakukan dengan tujuan untuk mensterilkan ruangan laboratorium kultur jaringan yang akan digunakan sebagai tempat penelitian. Proses ini dimulai dengan sterilisasi ruangan dengan membersihkan setiap peralatan menggunakan alkohol 70% dan diusap menggunakan tisu. Lantai juga harus dipastikan steril dengan dibersihkan menggunakan wapol sebanyak tiga kali ulangan supaya dipastikan benar-benar bersih dan dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan sinar UV selama 30 menit. Kemudian untuk memastikan ruangan sudah steril dan tidak terdapat kontaminan maka dilakukan uji sterilisasi ruang menggunakan cawan petri yang memuat media NA dan PDA pada beberapa

tempat, kontaminan dapat berupa bakteri atau jamur (Festing, M. F, & Altman, D. G. 2002).

3.5.3 Preparasi Alat dan Bahan

Proses preparasi alat dan bahan dilakukan dengan beberapa tahapan. Setiap alat-alat yang akan digunakan antara lain alat *dissecting* seperti pisau, pinset dan alat-alat gelas, non-gelas dan logam direndam pada tipol selama 1x24 jam. Setelah 1x24 jam alat tersebut digosok dan dibilas sebanyak 21 kali pada air mengalir, dan terakhir disarankan menggunakan aquades supaya hasilnya maksimal. Kemudian alat-alat dikeringkan pada oven suhu 50⁰ C dan dibungkus menggunakan alumunium foil. Selanjutnya dilanjutkan dengan steriliasi kering dengan oven pada suhu 125⁰ C selama 3 jam untuk kategori peralatan gelas dan logam. Sterilisasi basah pada autoklaf dengan suhu 121⁰ C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit untuk kategori peralatan yang sifatnya plastik (Festing, M. F, & Altman, D. G. 2002).

3.5.4 Pembuatan Media Stok Kultur Sel

Proses pembuatan media stok dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Stok media kultur yang akan disiapkan yaitu media *Tissue Culture Medium 199* (TCM-199) dan disiapkan larutan stok glukosa 1 M sebagai larutan perlakuan. Pembuatan media stok diawali dengan proses homogenisasi bubuk media kultur TCM-199 dengan *DI Water*, *Growth hormon*, *penicillin-streptomycin* dan diaduk hingga larutan tercampur sempurna. Selanjutnya media stok yang sudah dibuat disterilisasi menggunakan filter membrane *milipore* dengan porositas 0.22 μ m. Simpan media dalam lemari pendingin atau Freezer dengan suhu 4⁰ C

sampai digunakan. Metode ini berdasarkan produk Vandani (2011) yang telah dimodifikasi.

3.5.5 Isolasi Sel Pankreas *Rattus norvegicus*

Pankreas *Rattus norvegicus* diisolasi dengan beberapa proses di dalam LAF. Berikut langkah isolasi sel pankreas berdasarkan A Fernandes . (2024) antara lain yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) yang telah disiapkan disterilisasi dengan alkohol terlebih dahulu, kemudian dilakukan dislokasi. Setelah mati maka dilanjutkan dengan metode pembedahan guna mendapatkan isolat pankreas yang dibutuhkan. Pembedahan dilakukan pada area abdomen menggunakan gunting dan pinset steril. Dilanjutkan dengan sayatan vertikal hingga terlihat organ dalam. Setelah pankreas didapatkan maka dipisahkan dengan hati-hati untuk menghindari kerusakan jaringan lain. Isolat organ pankreas yang telah diisolasi dilakukan proses *washing* dengan PBS dan dilakukan *washing* bertingkat untuk memastikan sel tidak mati karena stres. Isolat pankreas kemudian dicacah secara mekanik hingga halus dengan menggunakan gunting dan *vortex*. Suspensi sel yang telah dicuci dan dicacah kemudian disaring melalui *cell strainer* sehingga memisahkan sel dari gumpalan yang besar. Sel-sel kemudian dimasukkan pada media kultur TCM-199 yang mengandung 10% FBS dan *Penicillin-streptomycin* untuk memastikan lingkungan kultur yang optimal bagi kultur sel pankreas. Sel siap untuk dikultur ulang pada perlakuan yang sudah disiapkan.

3.5.6 Kultur sel dan perlakuan

Proses penanaman dan perlakuan isolasi sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dalam LAF. Langkah penanaman dan perlakuan sesuai dengan (Charni, 2020) yang dimodifikasi. Isolat sel pankreas yang telah

ditanamkan ke dalam *Tissue Culture Disk* dengan media diinkubasi selama 72 jam dan mencapai konfluensi 70%-80% dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C dan kadar CO₂ 5%. Setelah 72 jam dan mencapai konfluensi 70%-80%, dilakukan pencucian dengan PBS untuk *washing* dan diberikan media dengan perlakuan konsentrasi glukosa 5 mM, 15 mM, dan 25 mM.

3.5.7 Prosedur MTT Assay untuk uji viabilitas dan sitotoksitas

Prosedur MTT Assay untuk uji sitotoksitas pada sel pankreas yang telah diberi perlakuan konsentrasi glukosa. Setelah inkubasi, media lama dibuang dan ditambahkan larutan MTT pada konsentrasi 0,5 mg/mL ke dalam setiap sumur. Media dan MTT ini akan berinteraksi dengan enzim mitokondria pada sel hidup dan mereduksi MTT menjadi kristal formazan. Inkubasi kembali plate yang telah diberi MTT dalam inkubator selama 3-4 jam pada suhu 37°C untuk memastikan pembentukan kristal formazan dalam sel yang masih hidup. Setelah inkubasi, media dengan MTT dibuang. Tambahkan DMSO ke setiap sumur untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk menjadi larutan ungu. Diamkan beberapa menit hingga kristal benar-benar larut. Absorbansi setiap sumur diukur pada panjang gelombang 490 nm menggunakan *ELISA reader* atau spektrofotometer mikroplate. Nilai absorbansi sebanding dengan jumlah sel hidup di setiap kelompok. Dihitung persentase viabilitas sel dengan membandingkan absorbansi sampel terhadap kontrol. Persentase sitotoksitas juga dapat dihitung berdasarkan penurunan viabilitas.

3.6 Uji Konfluensi menggunakan *software* ImageJ

Uji konfluensi ini bertujuan untuk mengevaluasi tingkat pertumbuhan sel pankreas setelah perlakuan glukotoksitas. Proses ini berdasarkan (Moon, 2023)

dengan proses yaitu pengambilan gambar sel menggunakan mikroskop inverted setelah perlakuan di setiap kelompok, dengan fokus pada area representatif dalam *well*. Kemudian gambar dimasukkan ke dalam *software ImageJ*, kemudian diolah dengan fitur *Thresholding* untuk memisahkan area sel dari latar belakang. Fitur *Analyze Particles* digunakan untuk menghitung area sel yang tersebar di gambar. Kemudian persentase konfluensi dihitung sebagai rasio area sel terhadap total area gambar, memberikan gambaran tingkat konfluensi sel pada setiap perlakuan. Persentase konfluensi dibandingkan antar kelompok untuk mengidentifikasi efek perlakuan glukotoksisitas terhadap konfluensi sel pankreas.

Penggunaan *software ImageJ* membantu dalam menghasilkan data kuantitatif mengenai konfluensi, mendukung evaluasi efektivitas perlakuan dalam meningkatkan pertumbuhan sel di bawah kondisi glukotoksisitas

3.7 Analisis Data

Dalam penelitian ini, data viabilitas, konfluensi dan sitotoksisitas pada kultur sel dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS (IBM Corp. 2013). Uji statistik yang digunakan adalah uji ANOVA satu arah (One-Way ANOVA) untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka uji statistik parametrik yang digunakan adalah One-Wat ANOVA. Namun, jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka uji statistik non-parametrik yang digunakan adalah Kruskal-Wallis.

BAB IV

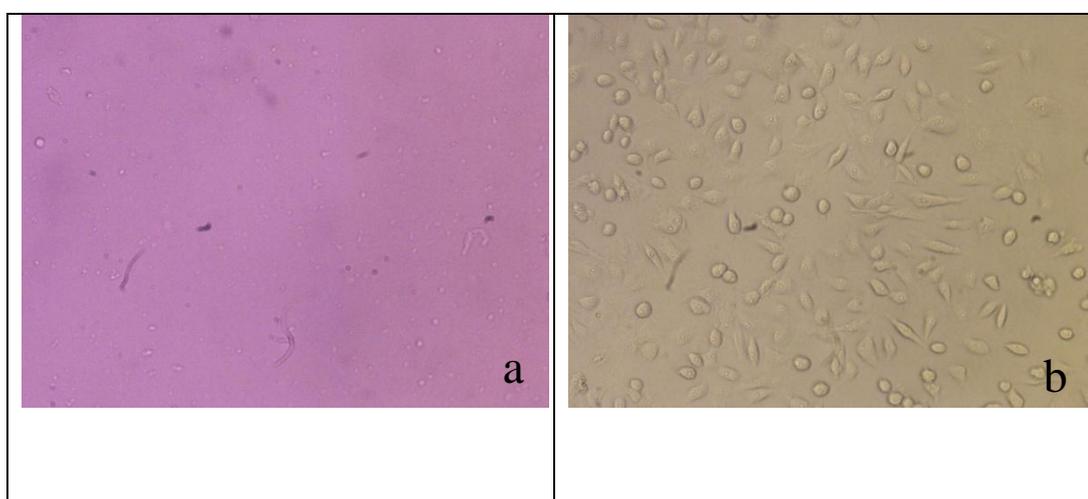
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pengaruh konsentrasi glukosa terhadap pertumbuhan kultur sel primer pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) menggunakan uji viabilitas, konfluensi dan sitotoksitas pada sel pankreas yang dibandingkan sebelum dan setelah diinduksi dengan glukosa pada konsentrasi tertentu secara *in vitro*. Dalam penelitian ini terdapat empat kelompok perlakuan konsentrasi yang berbeda, yaitu satu kelompok kontrol (tanpa diinduksi glukosa), serta 3 kelompok perlakuan induksi glukosa meliputi P1 (5 mM), P2 (15 mM), dan P3 (25 mM). Viabilitas dan Sitotoksitas kultur sel pankreas diuji dengan metode MTT Assay sedangkan konfluensi diuji dan dihitung dengan software *ImageJ*. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh perlakuan glukosa tinggi terhadap viabilitas, konfluensi, dan sitotoksitas sel kultur yang digunakan sebagai model awal kerusakan sel akibat kondisi hiperglikemia kronik.

Penelitian ini jelas bertujuan untuk menjadi pendekatan untuk mengamati pengaruh dari paparan glukosa tinggi pada sel pankreas tikus dengan tiga parameter utama, yaitu viabilitas, konfluensi, dan sitotoksitas pada sel. Model ini dirancang dengan tujuan awal untuk merepresentasikan kondisi kronis sebagaimana yang terjadi pada pasien diabetes melitus, dengan tujuan akhir membuat suatu sisten uji yang representative untuk skrining obat-obat *herbal antidiabetic* berbasis sel.

Hasil isolasi dari organ pankreas tikus dikultur pada medium TCM 199 (10% FBS) selama 3x24 jam sampai konfluen dan sel dapat menempel dengan

baik pada dasar TC-Dish/Flask. Tanda bahwa sel yang dikultur berhasil tumbuh dengan baik dan dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan *in vitro* saat terjadi konfluensi atau sel berhasil membelah, menyebar dan memperbanyak diri hingga menutupi dasar TC-Dish. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar 4. Hasil pengamatan isolasi dan kultur sel pankreas dilakukan menggunakan mikroskop inverted (Nikon) dengan perbesaran 20x.



Gambar 4. 1 Kultur sel pankreas *Rattus norvegicus* sebelum induksi yang diamati dengan menggunakan mikroskop inverted pada perbesaran 20x, (a) Sel pankreas setelah kultur 1x24 jam, (b) Sel pankreas setelah 3x24 jam menunjukkan konfluen.

Hasil kultur yang ditunjukkan pada gambar 4.1 menunjukkan sel yang diamati 1x24 jam dari proses penanaman dan belum menempel sepenuhnya pada dasar *dish*. Hal ini tentunya dilakukan untuk mempermudah mengamati sel menggunakan mikroskop inverted (Nikon). Setelah dikultur selama 3x24 jam, maka dapat dilihat sel sudah baik menempel dan mengalami konfluen, ditandai

dengan sel yang mengalami penjuruan dan proliferasi. Hal tersebut menunjukkan sel dapat beradaptasi dengan kondisi *dish* dan medium yang diberikan. Hasil sel yang sudah konfluen dapat dipersiapkan untuk pemberian perlakuan glukosa sesuai dengan konsentrasi yang sudah ditentukan.

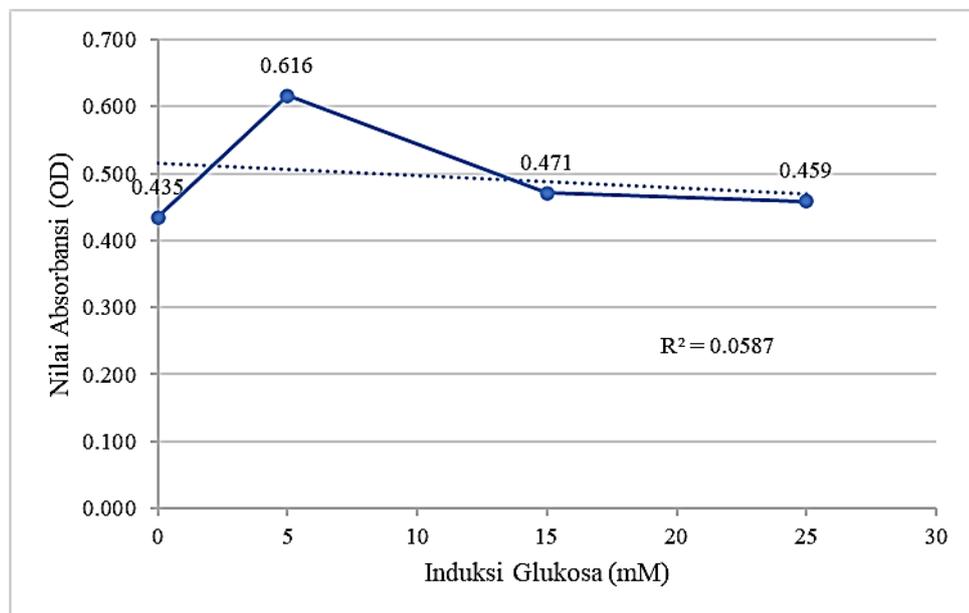
4.1 Hasil Efek Perlakuan Induksi Glukosa Terhadap Viabilitas Kultur Sel Pankreas

Viabilitas sel merupakan indikator penting untuk menilai kemampuan sel bertahan hidup setelah terpapar zat atau kondisi lingkungan tertentu. Dalam penelitian ini, viabilitas sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) dianalisis guna mengevaluasi dampak paparan glukosa dengan berbagai konsentrasi terhadap kelangsungan hidup sel secara *in vitro*. Metode yang digunakan untuk mengukur viabilitas adalah MTT assay, di mana nilai absorbansi yang dihasilkan mencerminkan aktivitas metabolik sel hidup. Semakin tinggi nilai absorbansi, maka semakin banyak sel yang masih aktif dan hidup. Sebaliknya, penurunan absorbansi menunjukkan adanya kerusakan sel atau kematian akibat paparan perlakuan. Pengujian dilakukan pada empat kelompok, yakni kontrol (tanpa glukosa), P1 (5 mM), P2 (15 mM), dan P3 (25 mM), masing-masing diulang untuk memperoleh data kuantitatif yang dapat dianalisis secara statistik. Hasil rerata uji ELISA dengan panjang gelombang 490 nm ditunjukkan dalam tabel 4.1

Tabel 4.1 Rerata Nilai Absorbansi (OD) Viabilitas Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Perlakuan Glukosa (72 Jam)

Perlakuan	Rerata Viabilitas \pm SD
Kontrol (0 mM)	0,434 \pm 0.010
P1 (5 mM)	0,616 \pm 0.014
P2 (15 mM)	0,471 \pm 0.020
P3 (25 mM)	0,459 \pm 0.038

Hasil nilai absorbansi (OD) pada penelitian ini divisualisasikan dalam bentuk kurva standar untuk mengevaluasi respons sel pankreas tikus terhadap berbagai konsentrasi glukosa secara in vitro. Gambar 4.1 menunjukkan grafik kurva standar efek induksi glukosa terhadap viabilitas sel pankreas. Sumbu X menunjukkan konsentrasi glukosa yang diberikan, yaitu 0 mM (kontrol), 5 mM, 15 mM, dan 25 mM. Sementara sumbu Y menunjukkan nilai absorbansi hasil uji MTT sebagai indikator viabilitas sel, dengan rentang nilai sekitar 0,43 hingga 0,61 OD (Optical Density).



Gambar 4. 2 Kurva standart nilai absorbansi viabilitas

Kurva standar pada Gambar 4.2 menunjukkan respons viabilitas sel pankreas terhadap paparan glukosa pada berbagai konsentrasi. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan glukosa 5 mM menghasilkan nilai OD tertinggi (0,616), yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi ini sel menunjukkan viabilitas paling optimal. Sementara pada perlakuan 15 mM dan 25 mM terjadi penurunan

viabilitas dengan nilai OD masing-masing sebesar 0,471 dan 0,459. Kontrol tanpa glukosa menunjukkan nilai OD sebesar 0,435. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi glukosa rendah (5 mM), sel justru mampu mempertahankan aktivitas metaboliknya dengan lebih baik, namun pada konsentrasi yang lebih tinggi terjadi penurunan viabilitas yang bisa dikaitkan dengan efek sitotoksik.

Nilai koefisien determinasi ($R^2 = 0,0587$) menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi glukosa dan viabilitas sel dalam rentang konsentrasi ini tidak bersifat linier, melainkan menunjukkan pola bifasik. Ini mengindikasikan bahwa viabilitas sel tidak meningkat atau menurun secara konstan terhadap peningkatan konsentrasi glukosa, namun justru menunjukkan kemungkinan adanya ambang toleransi sel terhadap beban glukosa sebelum kemudian terjadi penurunan viabilitas. Kondisi ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa glukosa berlebih dapat mengganggu metabolisme sel dan menyebabkan disfungsi mitokondria, yang pada akhirnya menyebabkan disfungsi dan kematian sel (Jimenez, 2020).

Penurunan nilai absorbansi pada uji MTT memperkuat temuan ini, mengindikasikan penurunan aktivitas mitokondria dan kapasitas metabolik sel (Ghasemi, 2021; GoldBio, 2019). sebagaimana telah dikemukakan oleh Asmat . (2016) dan Brownlee (2020) bahwa kondisi hiperglikemia kronik dapat merusak integritas sel. Temuan berikut didukung oleh penelitian Fiorello . (2020) yang menunjukkan bahwa paparan glukosa tinggi dapat mengganggu bioenergetik sel pankreas dan menyebabkan penurunan fungsi mitokondria secara signifikan.

Selanjutnya dilakukan uji untuk melihat apakah perbedaan rerata antar kelompok perlakuan bersifat signifikan secara statistik. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai signifikansi (p) = 0,000 ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan nyata viabilitas antar kelompok perlakuan glukosa. Namun, uji Levene's Test menunjukkan nilai p = 0,014, yang berarti data tidak memenuhi asumsi homogenitas varians. Oleh karena itu, untuk validitas lebih lanjut, dilakukan juga uji Kruskal-Wallis sebagai alternatif non-parametrik, yang menunjukkan nilai p = 0,015, menguatkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok.

Meskipun demikian, karena Kruskal-Wallis tidak menunjukkan secara langsung kelompok mana yang berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut Mann-Whitney U antar pasangan kelompok dengan koreksi Bonferroni. Hasil post hoc menunjukkan bahwa perlakuan P1 (5 mM) berbeda signifikan dibanding kontrol, sedangkan P2 dan P3 tidak menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol maupun antar keduanya. Hal ini mengindikasikan bahwa glukosa pada konsentrasi 5 mM dapat meningkatkan viabilitas sel pankreas secara bermakna, namun efek tersebut menurun pada konsentrasi lebih tinggi. Temuan ini sejalan dengan studi oleh Vasu . (2013) yang menunjukkan bahwa paparan glukosa ringan dapat merangsang aktivitas metabolik dan proliferasi sel β pankreas secara terbatas, sedangkan konsentrasi tinggi memicu gangguan fungsi sel dan disfungsi mitokondria (Robertson, 2018).

4.2 Hasil Efek Perlakuan Induksi Glukosa Terhadap Konfluensi Kultur Sel Pankreas

Konfluensi merupakan parameter yang digunakan untuk menilai luas permukaan dasar kultur yang berhasil ditutupi oleh sel dalam proses proliferasi. Pengamatan konfluensi dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana paparan glukosa dalam berbagai konsentrasi memengaruhi kemampuan sel pankreas tikus untuk tumbuh dan menyebar secara optimal. Konfluensi diamati melalui citra mikroskopis dan dihitung menggunakan perangkat lunak ImageJ, yang mengukur persentase luasan yang tertutup oleh sel. Sel yang sehat dan aktif akan menunjukkan tingkat konfluensi tinggi, sedangkan sel yang mengalami gangguan pertumbuhan akan cenderung menyebar lebih lambat dan menutupi area yang lebih sedikit. Empat kelompok perlakuan dianalisis secara kuantitatif untuk dibandingkan dan dilihat kecenderungannya secara statistik. Hasil rerata persentase luas area dari software ImageJ ditunjukkan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rerata Konfluens (%) Sel Pankreas setelah Pemberian Perlakuan Glukosa (72 Jam)

Perlakuan	Rerata Konfluens \pm SD
Kontrol (0 mM)	8.25
P1 (5 mM)	8.23
P2 (15 mM)	9.35
P3 (25 mM)	9.69

Visualisasi pengaruh glukosa terhadap konflik sel pankreas dilakukan melalui kurva standar yang menggambarkan persen luas bidang permukaan dish yang berhasil ditutupi oleh sel (konfluensi). Gambar 4.2 menunjukkan kurva

standar dari hasil analisis konflik menggunakan software ImageJ. Sumbu X menunjukkan konsentrasi glukosa yang diberikan dalam satuan mM (0, 5, 15, dan 25 mM), sedangkan sumbu Y menunjukkan persentase konfluensi yang dihitung dari area total yang tertutup sel dibandingkan dengan area total dish yang dianalisis.

Pada kelompok kontrol (0 mM), nilai konfluensi sebesar 8,25%, sedikit menurun pada perlakuan 5 mM (8,23%), namun meningkat signifikan pada perlakuan 15 mM (9,35%) dan mencapai nilai tertinggi pada 25 mM (9,69%). Pola ini tergambar dalam garis tren dengan persamaan regresi linier $y=0.0652x+8.149$ dan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0.9238$, menunjukkan hubungan yang cukup kuat dan linier antara peningkatan konsentrasi glukosa dan luas area yang ditutupi oleh sel.

Hasil ini menunjukkan bahwa meskipun viabilitas sel cenderung menurun pada konsentrasi glukosa tinggi, namun luas permukaan yang tertutup oleh sel (konfluensi) justru meningkat. Hal ini dapat diinterpretasikan sebagai respons kompensasi atau adaptasi morfologi sel terhadap stres glukosa, seperti pelebaran sitoplasma atau penjuluran membran sel. Kemungkinan lainnya adalah adanya partikel non-seluler atau debris yang turut terbaca sebagai luasan oleh software ImageJ. Oleh karena itu, pengamatan mikroskopis subjektif tetap penting untuk memastikan validitas hasil kuantitatif ini.

4.3 Hasil Efek Perlakuan Induksi Glukosa Terhadap Sitotoksitas Kultur Sel Pankreas

Sitotoksitas menunjukkan tingkat kerusakan atau kematian sel yang disebabkan oleh paparan zat tertentu, dalam hal ini konsentrasi glukosa tinggi. Pengukuran sitotoksitas dalam penelitian ini juga dilakukan menggunakan MTT assay, di mana nilai absorbansi yang rendah merefleksikan tingginya tingkat toksisitas terhadap sel. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengetahui seberapa besar efek glukosa dalam konsentrasi tertentu dapat menyebabkan penurunan aktivitas selular atau bahkan kematian sel. Pengamatan dilakukan pada keempat kelompok perlakuan (kontrol, P1, P2, dan P3), dan hasil yang diperoleh dianalisis untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil persentase tingkat sitotoksitas setelah sel pankreas diinduksi dengan perlakuan glukosa ditunjukkan dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3 Persentase Sitotoksitas Sel Pankreas setelah Perlakuan Glukosa (72 Jam)

Perlakuan	Viabilitas	Sitotoksitas (%)
Kontrol (0 mM)	100 %	0,00
P1 (5 mM)	141,61 %	-41,61
P2 (15 mM)	108,28 %	-8,28
P3 (25 mM)	105,52 %	-5,52

Hasil perhitungan persentase sitotoksitas sel pankreas menunjukkan bahwa pemberian glukosa dengan berbagai konsentrasi justru tidak memberikan efek toksik yang nyata terhadap sel. Sebaliknya, nilai sitotoksitas yang dihasilkan cenderung negatif, menunjukkan adanya potensi efek protektif atau

peningkatan viabilitas sel dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol (0 mM), nilai sitotoksitas ditetapkan sebagai 0% sebagai acuan. Namun, pada perlakuan 5 mM (P1), sitotoksitas justru bernilai -41,61%, yang menandakan adanya peningkatan viabilitas yang cukup signifikan. Perlakuan dengan 15 mM (P2) dan 25 mM (P3) juga menunjukkan hasil serupa, masing-masing -8,28% dan -5,52%. Hal ini menunjukkan bahwa sel masih mampu mentoleransi perlakuan glukosa dalam rentang konsentrasi tersebut tanpa mengalami kerusakan seluler yang berarti.

Meskipun uji sitotoksitas umumnya bertujuan untuk menentukan konsentrasi inhibisi 50% (IC₅₀) suatu zat, pada penelitian ini, penentuan nilai IC₅₀ tidak dapat dilakukan. Nilai IC₅₀ dihitung ketika suatu zat mampu menurunkan viabilitas sel hingga 50% dari kontrol (Mosmann, 1983). Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 4.3 dan perhitungan viabilitas di bagian 4.1), semua kelompok perlakuan glukosa menunjukkan persentase sitotoksitas bernilai negatif atau viabilitas sel yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (0 mM). Hal ini mengindikasikan bahwa pada rentang konsentrasi glukosa yang diuji (5 mM, 15 mM, dan 25 mM) dalam durasi paparan 72 jam, glukosa belum mencapai tingkat toksisitas yang cukup untuk menyebabkan penghambatan 50% atau kematian sel pankreas secara signifikan. Sebaliknya, nilai negatif tersebut menunjukkan adanya potensi efek stimulatif atau peningkatan viabilitas sel relatif terhadap kontrol. Temuan ini konsisten dengan literatur yang menyatakan bahwa uji MTT dapat digunakan untuk menilai proliferasi (pertumbuhan) dan kelangsungan hidup sel, di mana peningkatan absorbansi di atas kontrol mencerminkan efek stimulatif (Mosmann, 1983).

Fenomena ini dapat dijelaskan secara biologis bahwa pada konsentrasi rendah hingga sedang, glukosa justru dapat berperan sebagai substrat metabolik utama yang menunjang aktivitas selular, termasuk dalam hal sintesis ATP, proliferasi, serta regulasi homeostasis sel. Nilai sitotoksitas yang negatif dalam uji MTT seperti ini telah dilaporkan dalam beberapa penelitian sebagai indikator peningkatan viabilitas atau efek stimulatif perlakuan terhadap pertumbuhan sel (Ghasemi, 2021) dan (Liu, 1997). Maka dari itu, hasil ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 5–25 mM belum cukup kuat untuk menyebabkan efek toksik atau kerusakan sel pankreas secara *in vitro* dalam waktu paparan 3x24 jam.

Dengan demikian, model *in vitro* ini belum mencerminkan kondisi hiperglikemia kronis yang merusak secara signifikan. Untuk mencapai model sel yang mencerminkan kerusakan akibat glukosa berlebih, maka konsentrasi perlakuan dapat ditingkatkan hingga 30–50 mM atau waktu inkubasi diperpanjang lebih dari 72 jam, agar akumulasi glukosa dapat menyebabkan efek toksik nyata pada sel

4.4 Hasil Penelitian Ditinjau Dari Sudut Pandang Islam

Dalam Islam, ilmu pengetahuan dipandang sebagai sarana untuk mengenal ciptaan Allah dan mengembangkan kemaslahatan umat manusia. Hal ini ditegaskan dalam Al-Qur'an Surah Al-Mujadalah ayat 11, “Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat”, menunjukkan bahwa riset ilmiah merupakan bentuk pengabdian yang memiliki nilai spiritual tinggi apabila dilakukan dengan niat yang benar dan manfaat nyata bagi kehidupan.

Penelitian ini, yang mengamati pengaruh konsentrasi glukosa terhadap viabilitas, konfluensi, dan sitotoksitas sel pankreas tikus, memberikan gambaran mengenai bagaimana sel tubuh merespons kelebihan glukosa yang terus-menerus, mirip dengan kondisi yang dialami oleh penderita diabetes mellitus kronis. Dalam konteks Islam, menjaga kesehatan merupakan bagian dari amanah untuk menjaga tubuh (hifzh al-nafs) yang menjadi salah satu tujuan utama syariah (maqashid al-syari'ah).

Ketika sel mengalami dampak negatif akibat paparan glukosa tinggi, terjadi penurunan fungsi yang bisa menggambarkan kerusakan organ dalam jangka panjang. Hal ini secara spiritual bisa dimaknai sebagai bentuk ketidakseimbangan (fasad) yang terjadi jika manusia tidak menjaga pola hidup sehat dan seimbang. Rasulullah ﷺ juga telah memberikan tuntunan dalam pola makan yang moderat sebagaimana sabdanya: “Tidaklah anak Adam memenuhi wadah yang lebih buruk daripada perutnya...” (HR. Tirmidzi). Penelitian ini mengkaji bagaimana sel pankreas merespon paparan glukosa tinggi, yang relevan dengan penyakit diabetes mellitus kronis—suatu kondisi yang semakin meningkat akibat pola hidup tidak seimbang. Dalam Surah Al-A'raf ayat 31 Allah SWT berfirman :

كُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ۝

“...makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.” Ayat ini menjadi fondasi penting bahwa keseimbangan metabolik, termasuk konsumsi gula dalam batas wajar, merupakan ajaran Islam yang mendukung kesehatan. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya berkontribusi pada pengembangan ilmu biomedis tetapi

juga menjadi pengingat tentang pentingnya menjaga keseimbangan tubuh dan kesehatan melalui gaya hidup islami yang seimbang, tidak berlebihan, dan penuh tanggung jawab terhadap ciptaan Allah.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah terutama berasal dari sisi teknis, kemampuan serta pengalaman peneliti sebagai aspek sumber daya manusia yang penting dalam penelitian, sehingga target tercapainya data yang jelas tertunda dari rencana awal. Sebagai peneliti pemula, penulis mengaku bahwa prosedur kultur sel masih perlu banyak perbaikan dalam konsep steril, konsistensi dan keteraturan dalam pencatatan data. Mesti demikian, proses ini memberikan pengalaman laboratorium yang penting dan menjadi bekal untuk pengembangan metode penelitian yang lebih baik di masa depan terutama untuk mencapai kemaslahatan dalam konsep Kesehatan dan obat di masa depan. Seperti yang disampaikan Freshney (2015), kultur sel merupakan Teknik yang menuntut ketelatenan dan presisi tinggi, serta pengalaman empiris yang terus dikembangkan.

Dengan mempertimbangkan seluruh hasil dan keterbatasan, penelitian ini membuka peluang besar untuk dilanjutkan pada tahap selanjutnya yaitu uji efektifitas senyawa fitoterapeutik dalam mencegah atau menurunkan dampak sitotoksik dalam glukosa tinggi. Penggunaan model *in vitro* ini akan sangat bermanfaat dalam menyaring senyawa bioaktif lokal, mempercepat proses validasi farmakologis, dan mendukung pemanfaatan sumber daya hayati nasional sebagai bagian dari pengembangan obat herbal yang berbasis sains.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa perlakuan konsentrasi glukosa memberikan pengaruh yang nyata terhadap viabilitas dan konfluensi sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*), antara lain sebagai berikut

- 1) Konsentrasi glukosa 5 mM (P1) menunjukkan peningkatan viabilitas sel secara signifikan dibandingkan kontrol, sedangkan konsentrasi yang lebih tinggi (15 dan 25 mM) menunjukkan kecenderungan penurunan, meskipun tidak signifikan.
- 2) Konfluensi menunjukkan peningkatan numerik seiring peningkatan konsentrasi glukosa, namun kemungkinan dipengaruhi oleh faktor teknis pada analisis gambar.
- 3) Parameter sitotoksitas menunjukkan hasil negatif, mengindikasikan tidak adanya toksisitas signifikan terhadap sel pada ketiga perlakuan glukosa, bahkan menunjukkan respons adaptif sel terhadap stres.

Penelitian ini berhasil menggambarkan bahwa paparan glukosa dalam rentang fisiologis hingga tinggi dapat mempengaruhi respon seluler secara kompleks, dan memberikan model awal yang dapat digunakan dalam pengembangan uji skrining obat antidiabetik berbasis sel pankreas.

5.1 Saran

Saran untuk penelitian ini antara lain :

- 1) Perlu eksplorasi lebih lanjut tentang mekanisme molekuler (seperti jalur sinyal, ekspresi gen, atau potensi stres oksidatif) dan ekspresi gen terkait apoptosis agar mendapatkan gambaran lebih utuh tentang respon sel terhadap glukosa
- 2) Perlu memperluas rentang waktu dan konsentrasi perlakuan glukosa, terutama pada konsentrasi yang lebih tinggi (misalnya, di atas 25 mM) dan durasi paparan yang lebih lama (lebih dari 72 jam), agar dapat memicu efek toksik yang signifikan dan memungkinkan penentuan nilai IC50 pada parameter viabilitas, konfluensi, dan sitotoksitas sel.
- 3) Melakukan optimasi komposisi media kultur sel (misalnya, jenis serum, konsentrasi nutrisi, atau penambahan faktor pertumbuhan spesifik) untuk mendukung pertumbuhan dan viabilitas sel pankreas primer secara lebih optimal, serta mengurangi potensi kontaminasi. dan pengamatan terhadap morfologi sel.
- 4) Melengkapi analisis konfluensi dan viabilitas berbasis MTT dengan metode perhitungan jumlah sel secara langsung.
- 5) Penelitian ini dapat dikembangkan sebagai platform skrining awal untuk uji kandungan herbal antidiabetik lokal, demi memaksimalkan potensi sumber daya hayati nusantara.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramoff, M. D., Magelhaes, P. J., & Ram, S. J. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics International*, 11(7), 36-42.
- Adam, S. H., Mohd Nasri, N., Kashim, M. I. A. M., Abd Latib, E. H., Ahmad Juhari, M. A. A., & Mokhtar, M. H. (2022). Potential health benefits of *Nigella sativa* on diabetes mellitus and its complications: A review from laboratory studies to clinical trials. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1057825.
- Ajiningrum, P. S., Amilah, S., & Kurela, W. A. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Juwet dan Ekstrak Kulit Batang Juwet (*Syzygium cumini* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*) yang Hiperglikemia. *Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)*, 6(2).
- Al-Abdulla, R., Ferrero, H., Boronat-Belda, T., Soriano, S., Quesada, I., & Alonso-Magdalena, P. (2023). Exploring the effects of metabolism-disrupting chemicals on pancreatic α -cell viability, gene expression and function: a screening testing approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1044.
- Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi pharmaceutical journal*, 24(5), 547-553.
- Asosiasi Diabetes Amerika. (2021). Standar Perawatan Medis pada Diabetes 2021. *DiabetesCare*, 44 (Suplemen_1), S15-S33.
- Ayyanar, M., & Subash-Babu, P. (2012). *Syzygium cumini* (L.) Skeels: Tinjauan tentang kandungan fitokimia dan penggunaan tradisionalnya. *Jurnal biomedis tropis Asia Pasifik*, 2 (3), 240-246.
- Binita, K., Sharma, V., & Yadav, S. (2017). Potensi terapeutik biji *Syzygium cumini* pada diabetes melitus. *Jurnal Studi Tanaman Obat*, 5 (1), 212-218.
- Brownlee, M. (2020). The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*, 69(4), 762-777. <https://doi.org/10.2337/db20-0328>
- Charni-Natan, M., & Goldstein, I. (2020). Protocol for primary mouse hepatocyte isolation. *STAR protocols*, 1(2), 100086.

- Chaudhry, N. . (2021). Automated Analysis of Cell Confluency Using AI-Driven Imaging Software. *Journal of Cellular Imaging*, 45(3), 225–238
- Collins, T. J. (2007). ImageJ for microscopy. *Biotechniques*, 43(1), 25-30.
- DeFronzo, RA, Ferrannini, E., & Zimmet, P. (2015). *Buku Ajar Internasional Diabetes Mellitus*. Edisi ke-4. Wiley.
- Dos Santos, P. H., . (2017). Oxidative stress markers in culture media. *Biochemical Pharmacology*, 142, 46–56.
- Festing, M. F., & Altman, D. G. (2002). Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR journal*, 43(4), 244-258.
- Fiorello, M. L., Treweeke, A. T., Macfarlane, D. P., & Megson, I. L. (2020). The impact of glucose exposure on bioenergetics and function in a cultured endothelial cell model and the implications for cardiovascular health in diabetes. *Scientific Reports*, 10(1), 19547.
- Freshney, R. I. (2015). *Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications*. John Wiley & Sons.
- Freshny, R. I. (2015). Culture of animal cells. In *Culture of animal cells* (pp. 577-577).
- Furman, B. L., . (2020). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols*, 67(1), e87.
- Ghasemi, A., . (2021). MTT Assay Principle and Protocol. Retrieved from *Microbial Notes*.
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12827.
- Gold Biotechnology. (2019). MTT Cell Proliferation Assay. Retrieved from *GoldBio*.
- Halban, P. A., Polonsky, K. S., Bowden, D. W., Hawkins, M. A., Ling, C., Mather, K. J., ... & Weir, G. C. (2014). β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(6), 1983-1992.

- Hadi, R. S., & Sandra, Y. (2020). Pengaruh Glukosa Tinggi terhadap Proliferasi, Migrasi dan Ekspresi Gen OCT-4 pada Kultur Sel Dermal Fibroblast Manusia. *Majalah Kesehatan Pharmamedika*, 12(1).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2019). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press.
- Huang, C., & Gu, G. (2017). Effective isolation of functional islets from neonatal mouse pancreas. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (119), 55160.
- IBM Corp. (2013). *IBM SPSS Statistics for Windows (Version 22.0) [Computer software]*. IBM Corp.
- Ibn Qayyim Al-Jawziyyah. (2003). *Prophetic Medicine*. Dar Al-Kutub Al-Ilmiyyah.
- Ibnu Katsir, I. (2000). *Tafsir Ibnu Katsir*. Beirut: Dar Al-Kutub Al-Ilmiyyah.
- International Diabetes Federation. (2021). Diabetes facts and figures show the growing global burden for individuals, families, and countries. International Diabetes Federation. <https://idf.org/about-diabetes/diabetes-facts-figures/>
- Jaccard, N., Griffin, L. D., Keser, A., Macown, R. J., Veraitch, F. S., & Szita, N. (2014). Automated method for the rapid and precise estimation of adherent cell culture characteristics from phase contrast microscopy images. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(3), 504–517.
- Jimenez, C., . (2020). Oxidative stress in pancreatic beta-cell dysfunction. *Journal of Clinical Investigation*, 130(12), 6151-6162.
- Jimenez-Sánchez, C., Brun, T., & Maechler, P. (2020). Mitochondrial carriers regulating insulin secretion profiled in human islets upon metabolic stress. *Biomolecules*, 10(11), 1543.
- Kaneto, H., Katakami, N., & Matsuhisa, M. (2015). Peran stres oksidatif dan mekanisme anti-oksidatif dalam komplikasi diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 11(2), 60-7 <https://doi.org/10.2174/1573399811666150121123606>
- Kepp, O., Galluzzi, L., Lipinski, M., Yuan, J., & Kroemer, G. (2011). Cell death assays for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10(3), 221–237.
- Kern, R., Scott, R., & Wagner, A. (2014). Assay for cell viability and proliferation. *Cell Proliferation*, 46 (5), 497-508.

- Kim, J., Shin, S. H., Kang, J. K., & Kim, J. W. (2018). HX-1171 attenuates pancreatic β -cell apoptosis and hyperglycemia-mediated oxidative stress via Nrf2 activation in streptozotocin-induced diabetic model. *Oncotarget*, 9(36), 24260.
- Krause, M., & De Vito, G. (2023). Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus: Commonalities, Differences and the Importance of Exercise and Nutrition. *Nutrients*, 15(19), 4279
- Lablanche, S., Cottet-Rousselle, C., Lamarche, F., Benhamou, P. Y., Halimi, S., Leverve, X., & Fontaine, E. (2011). Protection of pancreatic INS-1 β -cells from glucose-and fructose-induced cell death by inhibiting mitochondrial permeability transition with cyclosporin A or metformin. *Cell death & disease*, 2(3), e134-e134.
- Lam, K. S. L., . (2016). Effects of high glucose on glucose metabolism in cultured muscle cells. *Journal of Endocrinology*, 231(2), 267-276.
- Liu, Y., Peterson, D. A., Kimura, H., & Schubert, D. (1997). Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *Journal of Neurochemistry*, 69(2), 581-593. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69020581.x>
- Magfirah, S. T. (2021). Ulul Albab Dalam Al-qur'an (Tafsir Tematik). *Aqlam: Journal of Islam and Plurality*, 6(2), 369121.
- Mirotoneng, G. S., Kairupan, C. F., & Durry, M. F. (2019). Gambaran Mikroskopik Endokrin Pankreas pada Tikus Wistar yang Diberikan Sukrosa Dosis Bertingkat. *eBiomedik*, 7(2).
- Moon, J. I., Kim, W. J., Kim, K. T., Kim, H. J., Shin, H. R., Yoon, H., ... & Ryoo, H. M. (2023). Foci-Xpress: Automated and fast nuclear foci counting tool. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14465.
- Mosmann, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Muoio, D. M., & Newgard, C. B. (2019). Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nature Reviews*

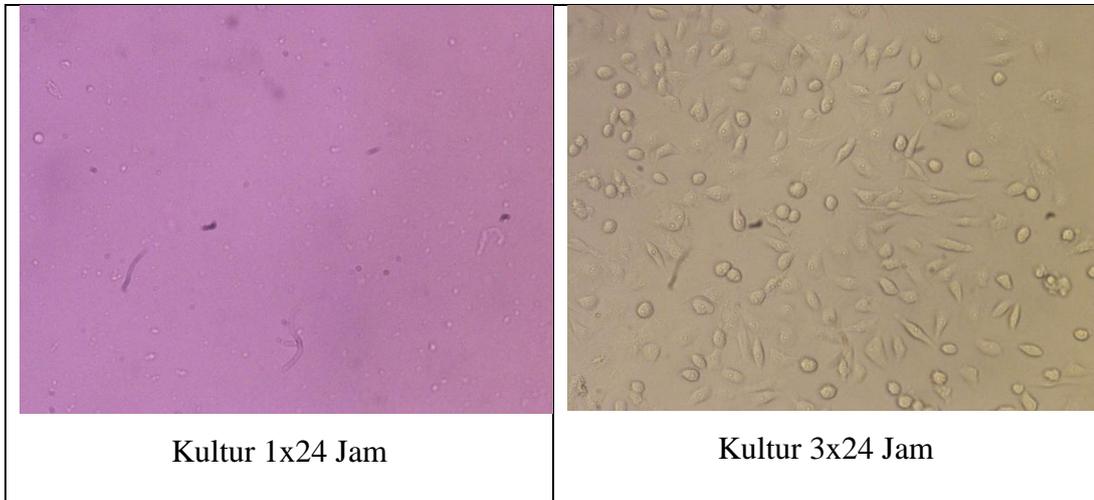
- Molecular Cell Biology, 10(2), 588–599. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0101-7>
- Ohkawa, H., . (2019). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Prasetyaningtyas, W. E., Romadhon, D. P., Susana, F., Djuwita, I., & Mohamad, K. (2016). Black seed (*Nigella sativa*) extract induce in vitro proliferation and differentiation of rat pancreatic and bone cells.
- Prathita, Y. A., Jusuf, A. A., Simadibrata, C., Djaali, W., & Viventius, Y. (2023). Impact On The Kidney Of Pancreas Damage Due To Streptozotocin-Induced Hyperglycemia. *Folia Medica Indonesiana (2355-8393)*, 59(2).
- Pujiastuti, E., Nugroho, AE, Nisa, K., & Hertiani, T. (2023). Mengungkap Kontribusi Fitokimia pada *Syzygium cumini* Sebagai-Antidiabetes: Tinjauan Sistematis. *Jurnal Farmasi Indonesia/Majalah Farmasi Indonesia* , 34 (4).
- Rajab, I. (2002). *Jami'ul Ulum wal Hikam*. Darussalam.
- Ranjan, S., Chauhan, P., & Verma, R. (2011). Bioactive compounds and pharmacological properties of *Syzygium cumini*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(4), 499-503.
- Raza, A., Mehmood, A., & Moinuddin, S. (2015). Bioactive compounds in *Syzygium cumini* L. seeds and leaves. *The Pharma Innovation Journal*, 4(11), 168-174.
- Robertson, R. P. (2018). Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells. *Journal of Biological Chemistry*, 293(19), 7141-7149.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* (Vol. 4). Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* (Vol. 4). Jakarta: Lentera Hati.
- Shyr, Z. A., Wang, Z., York, N. W., Nichols, C. G., & Remedi, M. S. (2019). The role of membrane excitability in pancreatic β -cell glucotoxicity. *Scientific reports*, 9(1), 6952.

- Sies, H. (2021). Oxidative stress: Eustress and distress in redox homeostasis. *Journal of the American Heart Association*, 10(3), e019414.
- Smith, R., . (2021). Enhancing cell culture analysis through ImageJ plugins. *Journal of Cell Science Tools*, 58(2), 112-120.
- Song, Y., Liu, Z., & Zhang, L. (2022). Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE): A pivotal hub in immune diseases. *MDPI Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules27154922>
- Sottero, B., . (2018). Lipid oxidation products in the pathogenesis of inflammation-related diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 25(11), 1311-1326.
- Sunita, R., Sahidan, S., & Hidayat, R. (2020). Evaluation of Malondialdehyde in Type 2 Diabetes Mellitus Patients as Oxidative Stress Markers in Bengkulu Population. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research*, 4(3), 45-54.
- Susanto, B. (2022). Konsep Ulul Albab Dalam Al-Qur'an Surat Ali Imran Ayat 190-195 Dan Relevansinya Dengan Tujuan Pendidikan Agama Islam. *GUAU: Jurnal Pendidikan Profesi Guru Agama Islam*, 2(1), 71-80.
- Takbir, M., & Wuyung, P. E. (2015). ALDH sebagai Penanda Kanker Sel Punca dari Beberapa Keganasan. *Pratista Patologi*, 4(1), 52-59.
- Vasu, S., McClenaghan, N. H., McCluskey, J. T., & Flatt, P. R. (2013). Cellular responses of novel human pancreatic β -cell line, 1.1 B4 to hyperglycemia. *Islets*, 5(4), 170-177.
- Weil, B. R., Abarbanell, A. M., Herrmann, J. L., Wang, Y., & Meldrum, D. R. (2009). High glucose concentration in cell culture medium does not acutely affect human mesenchymal stem cell growth factor production or proliferation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296(6), R1735-R1743.
- Welch, A. Z., & Koshland, D. E. (2013). A simple colony-formation assay in liquid medium, termed 'tadpoling', provides a sensitive measure of *Saccharomyces cerevisiae* culture viability. *Yeast*, 30(12), 501-509. <https://doi.org/10.1002/yea.2989>

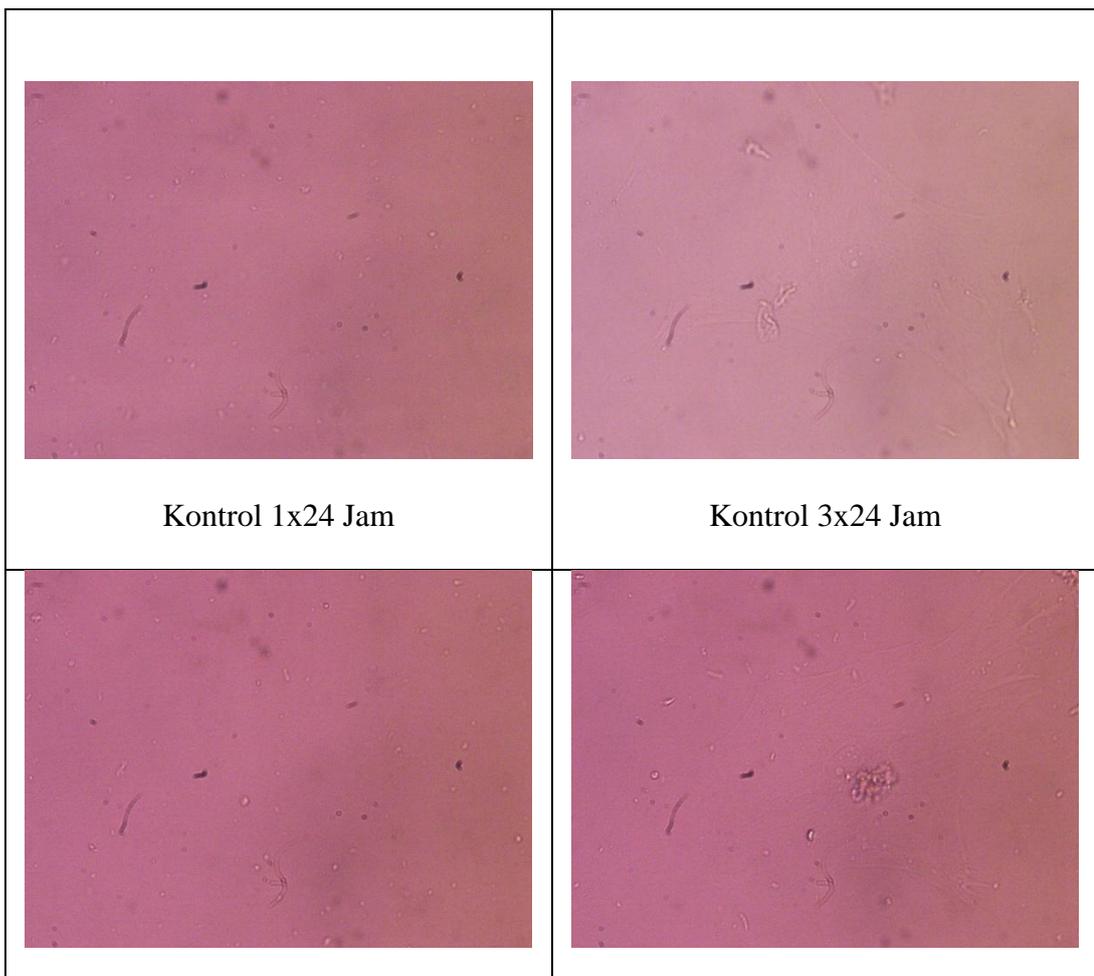
- Zhang, X., Gregg, EW, & Williamson, DF (2019). Kadar A1C dan risiko diabetes di masa depan: Tinjauan sistemik. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* , 7(5), 345-355. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)3030-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)3030-8)
- Zhou, Y., . (2019). High glucose induces ROS generation and apoptosis in cardiac myocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 136, 48-56.
- Zweifach, A. (2024). Determining how many cells to average for statistical testing of microscopy experiments. *Journal of Cell Biology*, 223(8), e202401074.

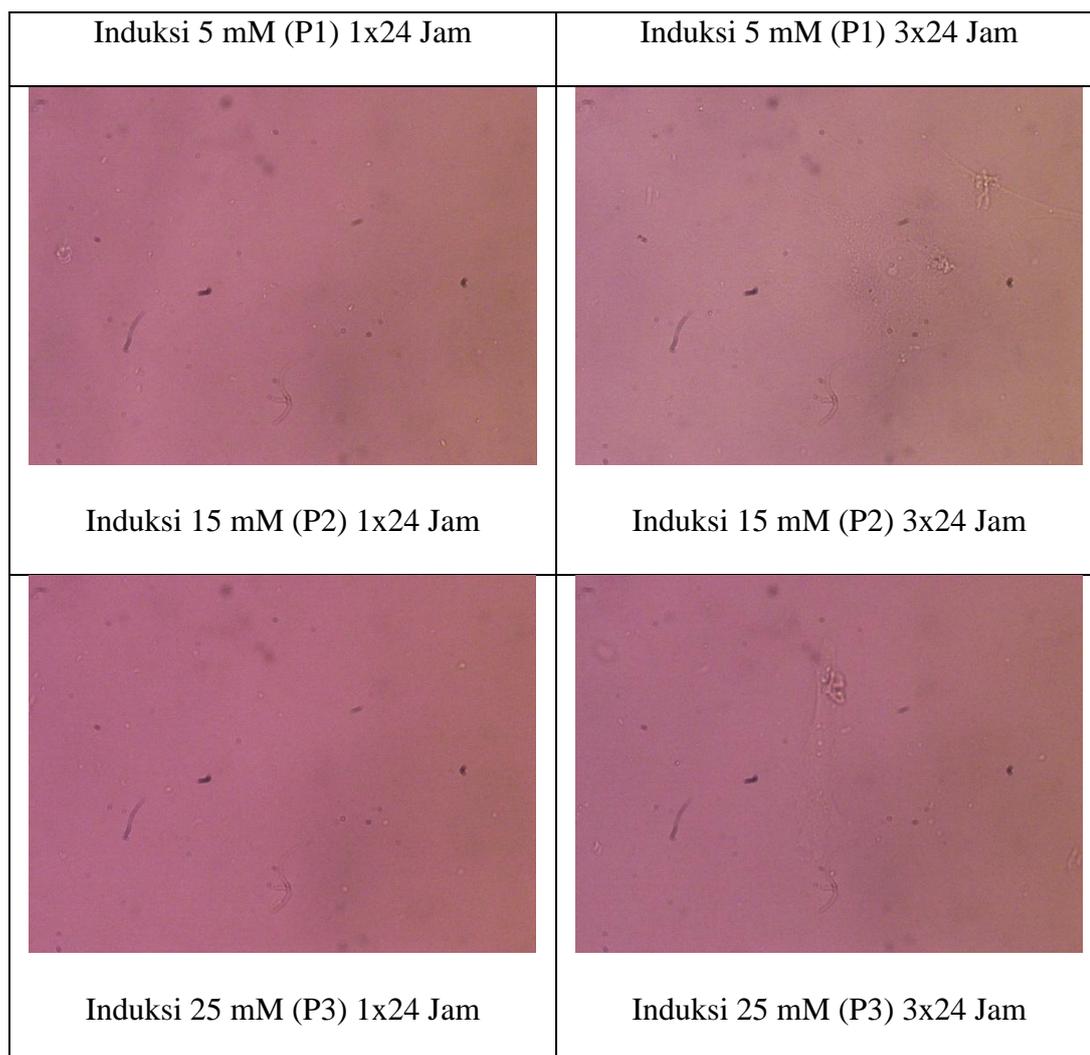
LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Kultur 24 (1x24) jam & 72 (3x24) jam sebelum induksi



Lampiran 2. Dokumentasi Kultur 3x24 Jam Paska Induksi





Lampiran 3. Hasil Absorbansi MTT ELISA Reader

	K	P1	P2	P3
1	0.434	0.598	0.459	0.402
2	0.421	0.618	0.484	0.486
3	0.445	0.615	0.491	0.472
4	0.438	0.633	0.45	0.476



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Rajulul Hadi
NIM : 210602110043
Judul : Pengaruh Konsentrasi Glukosa Terhadap Tingkat Stres Oksidatif Kultur Sel Primer Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	13%	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@u-n-malang.ac.id

**KARTU
SEMINAR PROPOSAL SKRIPSI**

Nama : Rajihul Hadi
NIM : 210602110043
Pembimbing Skripsi : Prof. Dr. Retno Purwati, M.Si
Judul Skripsi : _____

PAS FOTO
3X4

No	Tanggal	Judul Seminar Proposal Skripsi	TTD. Dosen Pembimbing
1	5/6/2024	Studi Metabolisme Porang (<i>Amorphophallus muelleri</i> Blume) pada Induksi Mulusi Kolkisin	
2	14/11/2024	Keanekaragaman serangga permukaan tanah pada perkebunan kopi desa sumberajo kec. purwasari, kab. panyaman	
3	14/11/2024	Keanekaragaman laba-laba tanah pada perkebunan kopi desa sumberajo kec. purwasari kab. panyaman	
4	Rabu 20/11/2024	Potensi bioherbivora Ekstrak Daun Keinipuh (<i>Chromolaena o.</i>) dan Vegetasi Suina pada Tanaman Jagu	
5	Jumab 17/1/2025	Antibacterial test of silver nanoparticles (AgNPs) Green basil leaf extract (<i>Clispenebse L.</i>) Against bacteria causing meningitis infections.	
6	17/1/2025	Synthesis and characterization of silver Nanoparticles of Turmeric Rhizome Extract (<i>Curcuma longa</i>).	
7	17/1/2025	Antibacterial Activity Test of a Combination of 96% ethanol extract of Alfepo Herb (<i>Mitiga sativa L.</i>) and pupaya on the tabacco insect.	
8	Jumab 17/1/2025	Efek of liquid organic fertilizer (POC) combination of mealwin grass and AB Mix in floating Paddy Hydroponic.	
9	Jumab 17/1/2025	Efek of liquid organic fertilizer (POC) combination of grass and AB Mix on growth and yield of green mint (<i>Peppermint L.</i>) in Hydroponic.	
10	17/1/2025	Komunitas protista di zona insentridal Pantai Tambora Indah Kabupaten Malang.	
11	20/1/2025	Pengaruh penambahan bakteri asam laktat (BAL) dan Khmir Endogit terhadap nilai produktivitas padi gandum Nisam	
12	20/1/2025	pengaruh kombinasi khmir endogit dan bakteri asam laktat terhadap volume, baking loss, organoleptik dan tekstur nasi gandum Nisam	
13	22/1/2025	Pengaruh kombinasi nanopartikel ekstrak daun Lagerströmia speciosa, Daun Syzygium cumini, dan rimpang Curcuma zanthoxylon terhadap histologi testis dan spermogenesis mice DM 2.	
14	22/1/2025	Pengaruh kombinasi nanopartikel ekstrak daun Lagerströmia speciosa, Daun Syzygium cumini, dan rimpang Curcuma zanthoxylon terhadap gambaran testis mice DM 2.	
15	19/1/25	The Effect of liquid Organic organic urine fertilizer and its combination with AB Mix on the growth and metal content of sorgho plant	

Sriya
Sebar
Putri
Anin
Afida
Nungah
Denada
Alliyah



Pembimbing Skripsi



Ketua Program Studi Biologi,

NIP.

Keterangan:



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 210602110043
 Nama : RAJULUL HADI
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jurusan : BIOLOGI
 Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si
 Dosen Pembimbing 2 : Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag
 Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Efektifitas ekstrak Stevia rebaudiana terhadap angka tekanan darah pada Mus musculus

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	10 Juni 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Konsultasi konsep penelitian	Genap 2024/2025	Siswa telah mengikuti
2	03 Oktober 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Perbaiki alur penelitian	Genap 2024/2025	Siswa telah mengikuti
3	11 November 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Ubah objek penelitian	Genap 2024/2025	Siswa telah mengikuti
4	25 November 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Konsul ke 4 proposal	Ganjil 2024/2025	Siswa telah mengikuti
5	04 Desember 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Konsul proposal ke-5	Ganjil 2024/2025	Siswa telah mengikuti
6	09 Desember 2024	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag	Konsultasi integrasi ayat dan hadits	Ganjil 2024/2025	Siswa telah mengikuti
7	10 Desember 2024	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag	Revisi draf + integrasi	Ganjil 2024/2025	Siswa telah mengikuti
8	12 Desember 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Revisi penulisan	Ganjil 2024/2025	Siswa telah mengikuti

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag

Malang, _____

Dosen Pembimbing

Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.SI

