

II. TINJAUAN PUSTAKA

2. 1 Diabetes Melitus

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronis yang dicirikan dengan adanya peningkatan kadar gula darah, yang seiring berjalannya waktu dapat merusak jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf. Lebih dari 90% kasus diabetes adalah diabetes melitus tipe 2 (DMT2), yaitu suatu penyakit yang ditandai dengan kurangnya sekresi insulin oleh sel β pankreas dan resistensi *insulin reseptor* (IR). Ketika penyakit ini berkembang, sekresi insulin tidak mampu mempertahankan homeostasis glukosa, sehingga menyebabkan hiperglikemia. Penderita diabetes melitus tipe 2 (DMT2) biasanya ditandai dengan tingginya proporsi obesitas atau lemak tubuh, terutama di daerah perut. Dalam kondisi ini, jaringan adiposa meningkatkan *insulin reseptor* (IR) melalui berbagai mekanisme inflamasi, termasuk peningkatan pelepasan *free fatty acid* (FFA) dan deregulasi adipokin. Penyebab utama epidemi diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah peningkatan obesitas secara global, gaya hidup yang tidak banyak bergerak, pola makan tinggi kalori, dan penuaan populasi, yang berkontribusi terhadap peningkatan insiden dan prevalensi diabetes melitus tipe 2 (DMT2) sebanyak empat kali lipat.

Organ-organ yang terlibat dalam perkembangan diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah hati, pankreas (sel β dan sel α), ginjal, otot rangka, otak, jaringan adiposa serta usus kecil. Ada banyak orang yang menderita diabetes melitus tipe 2 tetapi tidak terdiagnosis, sekitar 1 dari 3 penderita diabetes, yang jumlahnya setara dengan 232 juta orang. Kebanyakan penderita diabetes berada di usia 40 hingga 59 tahun. Insiden dan jumlah penyakit diabetes tipe 2 bervariasi berdasarkan lokasi geografis. Lebih dari 80% pasien tinggal di negara-negara dengan pendapatan rendah hingga menengah. Hal ini membuat pengobatan menjadi lebih sulit untuk dilakukan. Pasien yang menderita diabetes tipe 2 memiliki risiko lebih tinggi 15% untuk meninggal karena berbagai penyebab dibandingkan dengan orang yang tidak memiliki diabetes. Penyakit kardiovaskular adalah penyebab utama masalah kesehatan dan kematian yang berkaitan dengan diabetes tipe 2.

Pankreas sangat penting dalam menjaga kadar glukosa darah agar tetap stabil. Kadar glukosa dalam darah ditentukan oleh keseimbangan antara beberapa proses, seperti penyerapan glukosa dari saluran pencernaan, transportasi glukosa ke dalam sel, pembentukan glukosa oleh sel (terutama di hati), dan (secara abnormal) mengekskresi glukosa melalui urin. Hormon insulin

dari sel β pankreas penting untuk metabolisme glukosa. Insulin mempunyai empat efek yang bisa menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan penyimpanan karbohidrat, salah satunya adalah insulin dapat mempermudah untuk glukosa masuk ke dalam sebagian besar sel. Molekul glukosa tidak dapat masuk dengan mudah ke dalam sel tanpa bantuan insulin. Insulin diperlukan agar glukosa dapat diserap dari darah dan digunakan oleh sel.

Insulin meningkatkan cara masuknya glukosa ke dalam sel dengan bantuan transporter. Hal ini terjadi ketika tingkat glukosa dalam darah tinggi. Glukosa hanya bisa masuk ke dalam sel melalui pembawa di membran plasma yang disebut *glucose transporter*. Sel-sel yang bergantung pada insulin memiliki cadangan pengangkut glukosa di dalam sel. Pengangkut tersebut dimasukkan ke dalam membran plasma sebagai respons terhadap peningkatan sekresi insulin, sehingga terjadi peningkatan pengangkutan glukosa ke dalam sel. Jika produksi insulin berkurang, pengangkut tersebut akan ditarik dari membran sel dan dikembalikan ke dalam sel untuk disimpan. Karenanya, insulin sangat penting dalam menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan penyerapan gula dari darah untuk disimpan dan digunakan oleh sel (Dewi *et al.*, 2014).

2. 1. 1 Diabetes melitus tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 merupakan diabetes yang terjadi akibat rusaknya pankreas sehingga insulin tidak dapat dihasilkan. Selain itu, Diabetes melitus tipe 1 juga dapat disebabkan oleh hal lain seperti masalah genetik maupun autoimun. Dapat disimpulkan bahwa diabetes melitus tipe 1 disebabkan oleh faktor genetik, faktor imunologi dan faktor lingkungan. Penderita diabetes melitus tipe 1 akan selalu melakukan suntik insulin ke dalam tubuhnya. Hal tersebut dikarenakan diabetes melitus tipe 1 ini merupakan penyakit yang tidak dapat disembuhkan, akan tetapi kualitas perkembangan dan pertumbuhan penderita diabetes melitus tipe 1 dapat dipertahankan dengan mengontrol metabolik dengan baik. Kontrol metabolik yang baik diantaranya seperti pemberian insulin yang terkontrol, olahraga teratur, pemeliharaan kesehatan seperti diet, edukasi diri dan keluarga serta perlakuan dan dukungan dari keluarga maupun lingkungan sekitar. Penderita diabetes melitus tipe 1 kebanyakan anak-anak hingga remaja (Faida dan Santik, 2020).

2. 1. 2 Diabetes melitus tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 merupakan diabetes yang terjadi akibat adanya kesalahan atau kecacatan dalam produksi insulin di dalam tubuh, hal ini dapat disebut juga dengan resistensi terhadap insulin atau berkurangnya sensitivitas

terhadap insulin. Pada kasus diabetes melitus tipe 2 ini, pankreas tetap menghasilkan insulin, tetapi tubuh membentuk kekebalan terhadap efeknya, sehingga terjadi kekurangan insulin *relative*. Faktor resiko utama pada diabetes melitus tipe 2 adalah obesitas, dimana sekitar 80-90% penderita diabetes melitus tipe 2 mengalami obesitas. Akan tetapi, pada penderita diabetes melitus tipe 2, pemberian obat-obatan oral antidiabetes masih dapat membuat pankreas mensekresi insulin (Faida dan Santik, 2020).

2. 2 Tumbuhan *Kleinhovia hospita* L.

Indonesia memiliki keanekaragaman jenis tumbuhan tropis yang diperkirakan mencapai 30.000 spesies yang tersebar di seluruh kepulauan Indonesia. Oleh karena itu, Indonesia dianggap sebagai salah satu tempat pusat penyebaran berbagai tumbuhan tropis di dunia. Sebanyak 940 spesies tumbuhan dapat dijadikan tumbuhan potensial, termasuk bahan baku obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat. Ada sekitar 1.000 jenis tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional, yang mana 74% diantaranya berasal dari tumbuhan liar yang hidup di hutan. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai bahan baku obat tradisional adalah *Kleinhovia hospita* L. (Wahyuni *et al.*, 2017).

Adapun klasifikasi tumbuhan paliasa menurut *itis.gov* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Kleinhovia</i>
Species	: <i>Kleinhovia hospita</i> L.



(a)



(b)

Gambar 1. Morfologi Tumbuhan Paliasa : a) tumbuhan paliasa, b) daun paliasa
(Dokumentasi Pribadi, 2024).

Tumbuhan *Kleinhovia hospita* L. masuk dalam famili Malvaceae. Sinonim dari tumbuhan ini adalah *Cattimarus hospitus* (L.) Kuntze dan *Grewia meyeniana* Walp. Orang-orang di Kalimantan Timur biasa menyebutnya dengan nama tahongai. Dalam bahasa Inggris, tumbuhan *Kleinhovia hospita* L. disebut sebagai *guest tree*. Pohon ini biasanya tumbuh di seluruh wilayah tropis di benua Asia. Tumbuhan *Kleinhovia hospita* L. tersebar luas di berbagai negara seperti Indonesia, Cina, Taiwan, India, Myanmar, Thailand, Malaysia, Papua Nugini, Filipina, Fiji, dan Polinesia Perancis.

Pohon *Kleinhovia hospita* L. biasanya berukuran kecil hingga sedang, tingginya sekitar 5-20 m. Daun *Kleinhovia hospita* L. memiliki tangkai yang panjang, berukuran 3-5 x 5-10 cm. Daun *Kleinhovia hospita* L. berbentuk jantung lebar, berukuran 4,5-27 x 3-24 cm, dan bertulang di pangkalnya dengan daun menjari. Bunga *Kleinhovia hospita* L. tumbuh bersama-sama menjadi satu kelompok di ujung ranting. Rantingnya lebar dan ditutupi dengan rambut halus. Daunnya berbentuk oval dan berfungsi sebagai pelindung. Kelopak bunga *Kleinhovia hospita* L. bertaju lima, berbentuk lanset, ukurannya 6-19 mm, berwarna merah muda, dan berambut bintang di sisi luarnya. Ada 5 helai daun mahkota, empat di antaranya berbentuk pita lebar dengan pangkal berbentuk kantung merah sepanjang 6 mm. Helai kelima lebih pendek, berbentuk oval melintang dengan tepi terlipat ke dalam dan melekat satu sama lain, berujung kuning. Dasar bunga diperpanjang dengan tiang androginofor yang tipis, berambut, pangkalnya dikelilingi oleh tonjolan dasar bunga berbentuk cawan. Benang sari terdiri dari 5 helai dalam setiap tiga berkas di ujung tiang. Buah *Kleinhovia hospita* L. berbentuk seperti pir. Buah ini bertaju lima, panjang sekitar 2 cm, warnanya merah muda kehijauan, dan biasanya menggantung. Biji *Kleinhovia hospita* L. berbentuk hampir bulat dengan diameter 1,5-2 mm, berwarna hitam atau coklat gelap (Paramita, 2016).

Menurut Yuliana *et al.*, 2013, ekstrak daun *Kleinhovia hospita* L. dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji dengan hiperglikemia. Efek hipoglikemia tergantung pada seberapa besar dosis yang diberikan. Semakin banyak dosis ekstrak daun *Kleinhovia hospita* L. yang diberikan, maka efek penurunan kadar gula darah akan semakin kuat. Penurunan ini diduga disebabkan oleh kandungan triterpenoid dalam ekstrak daun *Kleinhovia hospita* L. Triterpenoid memiliki manfaat untuk mengontrol diabetes karena dapat mengaktifkan jalur enzim *AMP-activated protein kinase* yang membantu dalam penyerapan glukosa ke dalam sel (sehingga glukosa dapat masuk ke dalam sel).

2. 3 Mencit (*Mus musculus L.*)

Hewan coba merupakan hewan yang dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba. Mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan uji coba. Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium, khususnya digunakan dalam penelitian biologi. Mencit mempunyai banyak keunggulan, di antaranya siklus hidup yang relatif pendek, mudah berkembangbiak, mudah dalam penanganannya serta struktur anatomi, fisiologi dan genetik yang mirip dengan manusia (Rejeki *et al.*, 2018). Berikut klasifikasi mencit menurut *itis.gov* :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mammalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus L.</i>



Gambar 2. *Mus Musculus L.* (Yusuf *et al.*, 2022).

Karakteristik morfologi dari mencit antara lain bagian tubuh mencit terdiri dari kepala, badan, leher, dan ekor. Rambutnya berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Binatang ini sangat aktif pada malam hari sehingga termasuk golongan hewan nokturnal. Mencit dapat bertahan hidup selama 1–2 tahun, dan dapat juga mencapai umur 3 tahun. Pada umur 8 minggu, siap dikawinkan. Perkawinan mencit terjadi pada saat mencit betina mengalami estrus. Siklus estrus yaitu 4–5 hari, sedangkan lama bunting 19–21 hari. Berat badan mencit bervariasi. Berat badan mencit jantan dewasa berkisar antara 20–40 gram, sedangkan mencit betina 25–40 gram. Telinga mencit besar dan tidak kaku. Ukuran mencit lebih kecil dibandingkan tikus (panjang 12–20 cm termasuk ekor dan mencit dewasa memiliki berat 20–45 gram). Warna mencit putih, cokelat, atau abu-abu. Mencit menghasilkan 40–100 kotoran per hari. Ekor mencit panjang, tipis, dan berbulu. Sedangkan moncongnya berbentuk segitiga dengan kumis panjang.

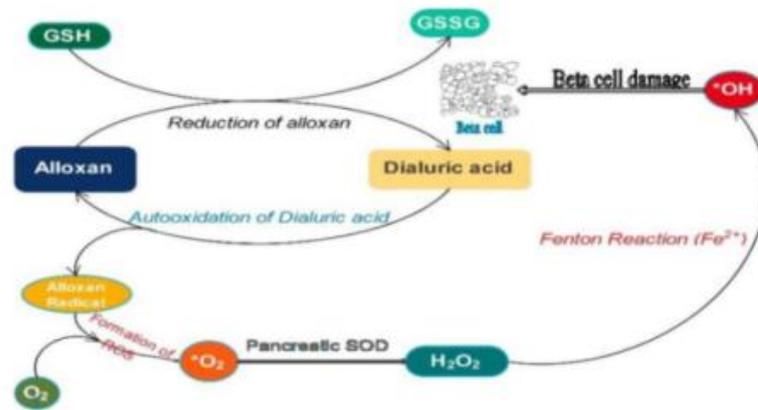
Organ pencernaan mencit sama seperti mamalia lain yang terdiri dari esofagus, lambung, duodenum, jejunum, ileum, sekum, kolon, dan rektum. Mencit memiliki paru-paru dengan satu lobus pada paru kiri dan empat lobus pada paru kanan. Binatang ini memiliki *brown fat* yang dapat dimetabolisme untuk meningkatkan produksi panas, yang dapat ditemukan pada kelenjar timus, aksila, sepanjang vena jugularis, dekat hilus ginjal, dan uretra. Mencit jantan dan betina dapat dibedakan dengan adanya kantung skrotum yang berisi testis pada mencit jantan dan jarak antara anus dan genitalia eksterna yang lebih jauh daripada mencit betina (Rejeki *et al.*, 2018).

Pada penelitian ini digunakan mencit jantan yang dinilai sehat dengan kriteria tidak cacat fisik, dan berumur 2-3 bulan, dengan berat badan 20-30 gram. Mencit jantan dipilih karena hormonal jantan lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina. Hal ini dikarenakan mencit betina akan mengalami masa-masa estrus, kehamilan, dan menyusui. Selain itu, tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan mencit putih jantan, yang mana, hal tersebut dikhawatirkan akan mengganggu selama penelitian berlangsung (Djohari *et al.*, 2021).

Mencit jantan dijadikan hiperglikemik dengan menyuntikkan salah satu zat kimia yaitu Aloksan. Aloksan merupakan suatu zat kimia yang diberikan untuk menghasilkan diabetes eksperimental. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan (Irdalisa *et al.*, 2015).

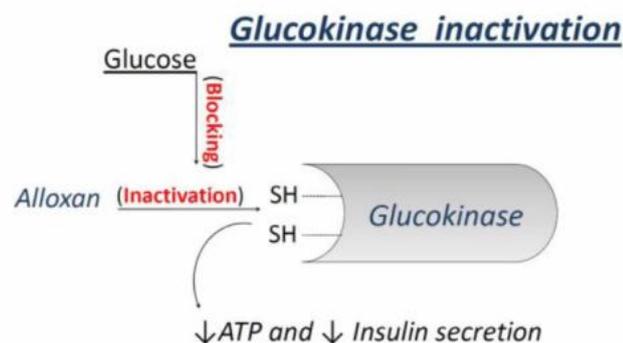
2. 4 Aloksan

Aloksan merupakan salah satu bahan aktif diabetogenik yang biasa digunakan dalam penelitian diabetes untuk menguji efektivitas obat antidiabetes yang terbuat dari bahan murni maupun ekstrak tumbuhan. Aloksan pertama kali diisolasi oleh Brugnatelli pada tahun 1818 serta pertama kali dideskripsikan oleh Frederick Whiler dan Justin Liebig pada tahun 1838. Penggunaan aloksan sebagai agen penginduksi diabetes pada hewan coba pertama kali dijelaskan dalam penelitian Dunn dan Maletchy, yang berhasil menginduksi diabetes pada kelinci percobaan. Nekrosis sel β pankreas yang diinduksi aloksan disebabkan oleh pembentukan radikal bebas yang berlebihan pada kelinci. Aloksan kemudian digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan pengerat seperti tikus dan mencit (Wulandari *et al.*, 2024).



Gambar 3. Mekanisme pembentukan ROS (Wulandari *et al.*, 2024).

Aloksan dapat memicu terjadinya diabetes dengan dua cara, yaitu inhibisi sekresi insulin (menghalangi aktivitas glukokinase) dan dengan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Pada pankreas, ada yang namanya enzim glukokinase, yang mana enzim ini berfungsi untuk memproduksi insulin. Apabila aloksan masuk ke dalam tubuh, aloksan akan mengganggu kinerja enzim glukokinase dengan mengurangi oksidase glukosa, sehingga hal ini dapat menurunkan pembentukan ATP dan menurunkan pembentukan insulin (Gambar 4). Untuk cara kedua, apabila aloksan masuk ke dalam tubuh, maka aloksan akan mengakibatkan *reactive oxygen species* (ROS) (Gambar 3). *reactive oxygen species* (ROS) ini akan mengakibatkan rusaknya sel β pankreas. Sehingga insulin tidak dapat diproduksi (Wulandari *et al.*, 2024).



Gambar 4. Mekanisme diabetes melitus tipe 2 (Radenković *et al.*, 2015).

2. 5 Propilen Glikol

Untuk melihat efektivitas suatu sediaan atau obat, tentunya bergantung pada kesediaan hayati dan kelarutan dari molekul obat atau sediaan tersebut. Kelarutan ini merupakan parameter penting dalam mencapai konsentrasi obat

atau sediaan agar respon farmakologis yang diinginkan dapat tercapai. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kelarutan dari suatu obat atau sediaan adalah dengan menggunakan campuran beberapa jenis pelarut. Hal ini biasa dikenal dengan istilah kosolvensi. Sedangkan bahan pelarut yang mempunyai sifat untuk meningkatkan kelarutan suatu zat disebut dengan kosolvent. Beberapa pelarut yang umum digunakan adalah etanol, gliserin dan propilen glikol. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol dan propilen glikol. Hal tersebut dikarenakan kedua pelarut tersebut dapat homogen dengan air. Penggunaan etanol dan propilen glikol biasanya digunakan untuk meningkatkan kelarutan pada beberapa sediaan atau obat seperti antidiabetes, etorisoksib dan flavonoif krisin (Dzakwan dan Priyanto, 2019). Sedangkan gliserin memiliki beberapa kekurangan yaitu rasa lengket pada kulit apabila dalam konsentrasi tinggi (Ameliana *et al.*, 2024)

Propilen glikol (*1,2-propadienol*, *1,2-dihydroxypropane* atau *1,2-propilen glikol*) merupakan suatu cairan dengan ciri berupa cairan kental, tidak berwarna dan jenuh yang memiliki rasa pahit manis dengan tekanan uap rendah dan sedikit berbau. Propilen glikol sering digunakan dalam industri kosmetik, farmasi maupun makanan. Hal tersebut dikarenakan propilen glikol memiliki sifat yang toksisitasnya rendah serta mempunyai sifat formulasi yang baik. Selain itu, propilen glikol juga bisa dimanfaatkan secara luas sebagai pelarut dari bahan organik, karena propilen glikol dapat larut sempurna didalam air. Dalam penggunaannya, propilen glikol biasanya sebagai pelarut, pelembut maupun sebagai absorber untuk menghilangkan atau mengurangi excess air (Idzati *et al.*, 2020).

III. METODE PENELITIAN

3. 1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung selama 3 bulan, dilaksanakan pada bulan Desember 2024 sampai Februari 2025 di Laboratorium Agroindustri Tanaman Obat dan Bioteknologi, serta Kandang Mencit Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi (lampiran 1).

3. 2 Alat dan Bahan Penelitian

3. 2. 1 Alat Penelitian

Gelas ukur, penangas air (*waterbath*), *rotary evaporator*, spatula, saringan nylon, blender Philips HR 2116, oven listrik Kirin KBO200RAB, jarum sonde oral, spuit 1 cc, alat pemeriksaan glukosa *Nesco Multi Check 1*, botol penampung maserat, botol kaca gelap ukuran 4 L, *glucose test strip Nesco Multi Check 1*, jaring kawat, bak plastik, *safeglove nitrile ONEMED*, masker ONEMED, timbangan *Taffware Digipounds*, timbangan *PROHEX*, labu ukur, pipet ukur, batang pengaduk, neraca analitik ADAM PGW 453i, spektrofotometer UV-Vis, corong kaca, mikro pipet, vortex, labu ukur, aluminium foil, inkubator, tabung reaksi, pipet tetes.

3. 2. 2 Bahan Penelitian

Mencit (*Mus musculus L.*), etanol 96%, serbuk DPPH, akuades, *Propylene Glycol PG USP Food Grade* 100 mL, sampel darah, aloksan, pur CP551, daun *Kleinhovia hospita L.*, glibenklamid, *Otsu-WI sterilised water for injection* 25 mL, *D-(+)-Glucose Monohydrate Grade Chemical Pure (CP)* 250gr, alkohol 70%, serbuk Mg, HCL, reagen mayer, reagen dragendorf, CH₃COOH anhidrit, H₂SO₄.

3. 3 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian kuantitatif metode eksperimen, dikarenakan penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak daun paliasa *Kleinhovia hospita L.* terhadap kadar gula darah mencit (*Mus musculus L.*) yang di induksi aloksan.

3. 4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 (enam) perlakuan dan 4 (empat) kali pengulangan :

P1 : Kontrol Normal.

P2 : Kontrol Positif (Glibenklamid dengan dosis 0,013 mg/20grBB).

P3 : Kontrol Negatif (Aloksan dengan dosis 5 mg/20grBB).

P4 : Ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) dengan dosis 7 mg/20grBB.

P5 : Ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) dengan dosis 14 mg/20grBB.

P6 : Ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) dengan dosis 21 mg/20grBB.

Dimana untuk dosis pemberian aloksan mengacu pada Oshkondali *et al.*, 2019. Sedangkan untuk dosis pemberian ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) mengacu pada Yuliana *et al.*, 2013 yang dikonversikan ke dosis mencit (lampiran 2). Berikut perhitungan pengulangan dalam penelitian ini yang menggunakan rumus Federer (Maquestiaux and Jacquemont, 2017) :

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

Keterangan : t = Jumlah perlakuan

n = Jumlah ulangan

Jadi :

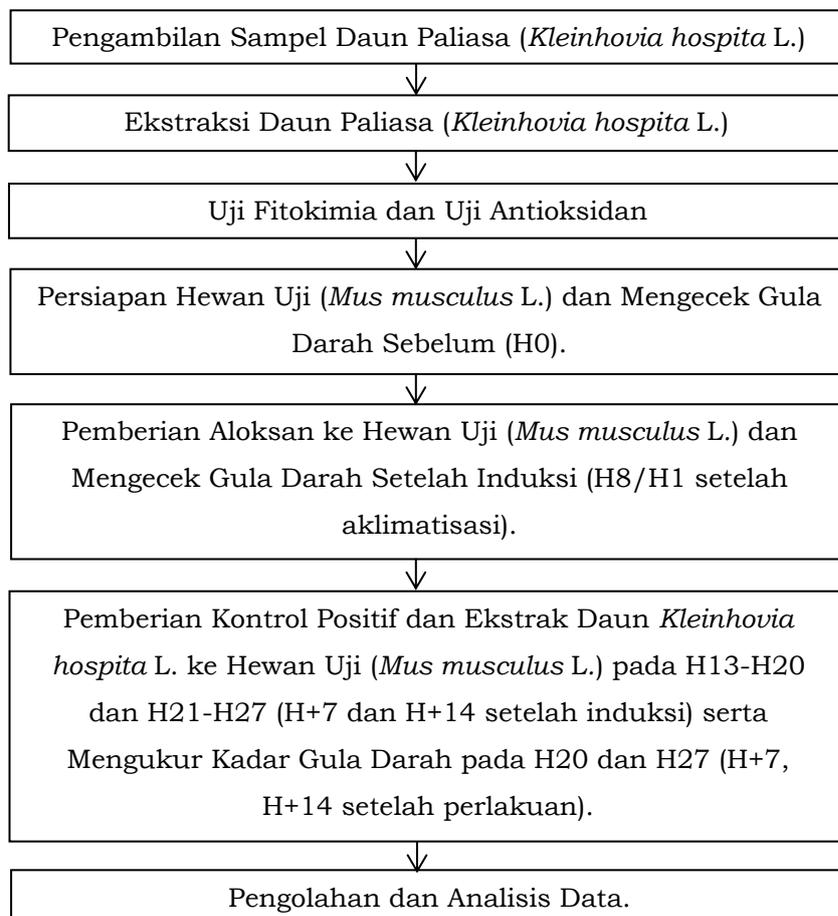
$$= (6-1) (n-1) \geq 15$$

$$5 (n-1) \geq 15$$

$$n-1 = 15/5$$

$$n = 3 + 1 = 4 \text{ (Pengulangan dilakukan sebanyak 4 (empat) kali).}$$

3. 5 Alur Penelitian



3. 6 Metode Penelitian

3. 6. 1 Pengambilan Sampel Daun *Kleinhovia hospita* L.

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun tumbuhan *Kleinhovia hospita* L. yang diperoleh di daerah perkebunan kelapa sawit PT. Inti Indosawit Subur Muara Bulian, yang terletak di Desa Bulian Jaya, Kecamatan Maro Sebo Ilir, Kabupaten Batanghari, Jambi. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kandungan zat yang terkandung pada daun adalah umur dari daun tersebut. Umur daun dapat dibedakan berdasarkan lokasi tumbuhnya daun pada batang tumbuhan tersebut. Posisi daun ketiga dari pucuk merupakan umur fisiologis daun muda, daun keenam dari pucuk merupakan umur fisiologis daun sedang, sedangkan daun kedelapan dari pucuk merupakan umur fisiologis daun tua (Maleke *et al.*, 2024). Menurut Suryani *et al.*, 2017, daun *Kleinhovia hospita* L. yang diambil dan digunakan yaitu daun yang sedang (yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua). Hal ini dikarenakan daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua memiliki zat aktif yang lebih tinggi.

3. 6. 2 Preparasi Sampel Daun *Kleinhovia hospita* L.

Daun yang sudah di petik dan sudah dilakukan penyortiran, selanjutnya dicuci. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sampel. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air mengalir. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan di oven menggunakan oven listrik Kirin KBO200RAB pada suhu 100°C selama 5 menit. Pengeringan dilakukan untuk mengeluarkan atau menghilangkan air dari sampel. Sampel yang telah kering merata kemudian dipotong kecil dan dihaluskan dengan menggunakan blender Philips HR 2116. Simplisia daun *Kleinhovia hospita* L. yang telah halus disimpan dalam botol kaca gelap. Simplisia disimpan di tempat yang kering dan terhindar dari sinar matahari langsung (Suryani *et al.*, 2017).

3. 6. 3 Ekstraksi Sampel Daun *Kleinhovia hospita* L.

Serbuk daun *Kleinhovia hospita* L. ditimbang sebanyak 308 gram kemudian di maserasi dengan 924 mL etanol 96% (perbandingan 1:3) dan didiamkan 3x24 jam (Wendersteyt *et al.*, 2021). Hasil dari maserasi kemudian disaring dengan menggunakan saringan nilon. Filtrat didapatkan setelah melalui penyaringan maserat melalui saringan nilon sebanyak 2 kali dan dipisahkan dalam *rotary evaporator* diuapkan dengan suhu 50⁰-60⁰C dengan pengurangan tekanan. Ekstrak hasil pemekatan dalam *rotary evaporator*