

UJI TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L) TERHADAP PARAMETER HEMATOLOGI

Fitri Rachmaini¹, Fitra Fauziah² dan Rahmad Abdillah^{1*}

¹Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinis, Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinis, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

*E-mail: rahmadabdillah@phar.unand.ac.id

Abstrak

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) banyak digunakan sebagai rempah-rempah dan obat tradisional, yang mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Selain itu, keamanan ekstrak etanol daun belimbing wuluh masih perlu dibuktikan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksisitas sub akut ekstrak etanol daun belimbing wuluh (EEDBW) terhadap parameter hematologi pada tikus jantan BALB/c. Dua puluh hewan uji dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal (Na CMC) dan kelompok peroral ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 800 mg/kg BB selama 21 hari. Parameter hematologi yang diamati adalah eritrosit, leukosit, trombosit, hemoglobin, hematokrit, *Mean Corpuscular Volume* (MCV), *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) dan *Red Blood Cell Distribution Width* (RDW). Parameter hematologi diukur pada hari ke-21. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya kematian maupun morbiditas pada uji toksisitas subakut. Studi ini menunjukkan bahwa EEDBW relatif aman untuk tikus jantan BALB/c. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EEDBW tidak memengaruhi jumlah seluruh parameter hematologi secara signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok normal. Dapat disimpulkan bahwa EEDBW tidak memiliki efek toksik sub akut terhadap parameter hematologi

Kata kunci: Toksisitas subakut; *Averrhoa bilimbi* L; Hematologi, mencit BALB/c

Abstract

Averrhoa bilimbi L. is widely used as a spice and traditional medicine and contains several chemical compounds, including alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. In addition, the safety of the ethanolic extract of *A. bilimbi* leaves still needs to be proven. This study aims to determine the sub-acute toxicity of starfruit leaf ethanol extract (EEDBW) on haematological parameters in male BALB/c mice. Twenty test animals were randomly divided into 4 groups: the normal control group (Na CMC) and starfruit leaf ethanol extract at 200 mg/kg BW, 400 mg/kg BW, and 800 mg/kg BW, administered orally for 21 days. The haematological parameters observed were erythrocytes, leukocytes, platelets, haemoglobin, hematocrit, MCV, MCHC and RDW. Haematological parameters were measured on the 21st day. The results of this study showed no mortality or morbidity in the subacute toxicity test. This study indicates that EEDBW is relatively safe for male BALB/c mice. The results showed that the EEDBW administration did not significantly affect all haematology parameters ($p > 0.05$) compared with the normal group. It can be concluded that EEDBW does not have a subacute toxic effect on haematological parameters.

Keywords: Subacute toxicity; *Averrhoa bilimbi* L; Haematology, BALB/c mice

PENDAHULUAN

Berbagai penelitian dan pengujian tanaman secara tradisional telah banyak dilakukan di Indonesia. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi membuktikan bahwa banyak pengobatan tradisional dari tanaman obat telah digunakan. (Nasri & Rafieian-Kopaei, 2014).

Salah satu tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat secara tradisional di Indonesia dan beberapa wilayah Asia serta

Asia Tenggara adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang berasal dari famili *Oxalidaceae*. Umumnya, orang mengolah daunnya dengan merebus atau membuat pasta untuk digunakan sebagai obat bagi beberapa masalah kulit, seperti gatal-gatal, kulit bengkak akibat gigitan serangga, serta beberapa infeksi kulit lainnya. Infus daun digunakan sebagai tonik setelah melahirkan, untuk mengobati batuk, serta rematik dan nyeri sendi (Alhassan & Ahmed, 2016; Aumeeruddy & Mahomoodally, 2020).

Belimbing wuluh mengandung senyawa alkaloid, kumarin, flavonoid, saponin, tanin dan asam-asam organik lainnya (Badan Pengawas Obat & Makanan Republik Indonesia, 2006). Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh memiliki efek antidiabetik, antimikroba, antihiperlipidemia, antiinflamasi, sitotoksik, serta antioksidan (Fauziah, Witari & Kardela, 2020; Aristyantari *et al.*, 2022; Nathania, Wasito & Hasanathuludhiyah, 2023).

Mengingat pemanfaatan tanaman belimbing wuluh yang sangat beragam, belum ditemukan penelitian mengenai efek toksisitas sub akut pada daun belimbing wuluh. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini akan membahas lebih lanjut toksisitas subakut ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap beberapa parameter hematologi mencit putih jantan.

METODE

Alat dan Bahan

Alat

Rotary evaporator (Rotavapor R 180®) (Buchi), *differential hematology analyzer* (Sysmex XS-800i®).

Bahan Tanaman

Daun belimbing wuluh dikumpulkan di Pauh, Padang, Sumatera Barat, Indonesia - 0.913548, 100.439067 dan diautentikasi oleh Assoc Prof. Dr Nurainas di Herbarium ANDA, Departemen Biologi, Universitas Andalas.

Bahan Kimia

Etanol 70% (PT Brataco), air suling (PT Brataco), natrium karboksimetil selulosa (Na CMC) (PT Brataco). Larutan pengencer untuk analisis hematologi terdiri dari natrium klorida, natrium sulfat, buffer fosfat, asam etilen diamin tetraasetat, 1-piridon-2-sulfur & formaldehida (Merck).

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh (EEDBW) dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Serbuk simplisia kering daun belimbing wuluh sebanyak $\pm$ 900 gram dimasukkan ke dalam wadah maserator, kemudian ditambahkan 9 liter etanol 70%, direndam selama 6 jam sambil sekali-sekali diaduk, lalu didiamkan hingga 24 jam. Maserat dipisahkan dari ampas menggunakan kain flanel. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak dua kali pengulangan dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (*Rotavapor R 180*®) (Buchi) hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh ditimbang. Berdasarkan literatur rendemen yang diperoleh tidak kurang dari 31,6 % lainnya (Badan Pengawas Obat & Makanan Republik Indonesia, 2006)

Analisis Kualitatif Fitokimia

Menggunakan protokol standar Farmakope Herbal Indonesia, tanaman dievaluasi untuk fitokimia, alkaloid diuji dengan metode Dragendorff dan Mayer, fenolik dengan metode Folin-Ciocalteu, flavonoid dengan metoda Shinoda, dan tanin dengan reagen FeCl₃ (J.B Harbone, 1988).

Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan galur balb/c berumur 2-3 bulan, dengan berat antara 20-30 g, sebanyak 20 ekor. Hewan dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok, dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Hewan diaklimatisasi selama 7 hari, diberi makan dan minum yang cukup untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan. Berat badan sebelum dan sesudah aklimatisasi dicatat.

Protokol Uji Toksisitas Subakut In vivo

Dua puluh mencit jantan balb/c dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing terdiri dari lima hewan, dan digunakan untuk



penelitian ini. Dosis ditentukan berdasarkan studi toksisitas akut sebelumnya dan laporan etnofarmakologi. Na CMC digunakan sebagai kontrol standar. Kelompok perlakuan menerima EEDBW oral dengan dosis 200, 400, dan 800 mg/kgBB sekali sehari selama 21 hari. Protokol ini telah disetujui oleh Komite Penelitian dan Etika Fakultas Farmasi Universitas Andalas dengan nomor sertifikat persetujuan No. 103/UN.16.2/KEP-FF/2025.

Analisis Hematologi

Setelah hewan dipuasakan selama satu malam, sampel darah dikumpulkan melalui vena cava inferior. Pada hari ke-21. Parameter hematologi seperti hematokrit (HCT), sel darah merah (RBC), hemoglobin (Hb), volume korpuskular rata-rata (MCV), hemoglobin korpuskular rata-rata (MCH), dan konsentrasi hemoglobin korpuskular rata-rata (MCHC) diukur menggunakan alat analisis hematologi otomatis Sysmex XS-800i (Jepang). Semua sampel dikumpulkan dalam tabung yang mengandung EDTA (Rachmaini *et al.*, 2024).

Analisis Statistik

Angka kematian (jumlah hewan yang mati) dihitung untuk setiap kelompok dan dicatat. Semua data dianalisis menggunakan ANOVA, diikuti oleh Uji Duncan sebagai analisis *post hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah daun belimbing wuluh yang diambil di daerah Pauh, Padang, Sumatera Barat, Indonesia, dan diautentikasi oleh Assoc. Prof. Dr. Nurainas di Herbarium ANDA, Departemen Biologi, Universitas Andalas.

Maserasi sampel dilakukan menggunakan pelarut etanol 70%. Cairan pelarut yang dipilih adalah yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung serta aman digunakan. Serbuk simplisia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dimaserasi sebanyak 900 g. Perendaman sampel dilakukan selama 24 jam, dengan 6 jam pertama sesekali diaduk dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Selanjutnya, maserat yang terkumpul dipekatkan menggunakan alat penguap putar untuk menguapkan pelarut dan air yang masih tersisa, sehingga diperoleh ekstrak kental seberat 285,5 g dengan rendemen 31,72 %.

Parameter fisikokimia yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar air, kadar abu total ekstrak, dan kadar abu tidak larut asam. Pada pengukuran kadar air ekstrak diperoleh hasil 6,87%. Kadar abu total ekstrak dengan nilai 6,25 %, kadar abu tidak larut asam ekstrak dengan nilai 0,059 %. Hasil yang diperoleh sesuai dengan standar Badan Pengawas Obat dan Makanan (Tabel 1)

Tabel 1. Parameter fisik dan fisikokimia EEDBW

Parameter	Nilai (%)
Rendemen	31,72 %
Kadar air	6,87 ± 0,77
Kadar abu total	6,25± 1.22
Kadar abu tidak larut asam	0,05± 0,00

Analisis fitokimia kualitatif tanaman menunjukkan kandungan beragam senyawa bioaktif seperti tanin, terpenoid, flavonoid,

fenolik, dan alkaloid (Tabel 2). Alkaloid dan tanin termasuk senyawa bioaktif yang paling banyak terdapat pada tumbuhan dari keluarga

Oxalidaceae. Kehadiran alkaloid dan senyawa bioaktif lainnya menunjukkan karakteristik tanaman obat serta

penggunaannya dalam berbagai farmakope.

Tabel 2. Analisis kualitatif EEDBW

Metabolit Sekunder	Hasil
Flavonoid	+
Fenolik	+
Alkaloid	++
Tannin	+
Steroid	-
Terpenoid	+

Studi toksisitas oral subakut pada tikus balb/c menunjukkan tidak ada kematian setelah pemberian EEDBW secara berulang selama 21 hari. Namun, terdapat perubahan

perilaku, seperti *grooming* dan kecenderungan hewan untuk tidur. Tidak ada perubahan pada kulit dan bulu, mata, atau saliva, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Gejala toksik pada tikus jantan BALB/c dalam uji toksisitas subakut EEDBW

Respon	24 jam setelah pemerian				14 hari setelah pemerian			
	Normal	EEDBW 200	EEDBW 400	EEDBW 800	Normal	EEDBW 200	EEDBW 400	EEDBW 800
Tremors	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Kejang	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Menggeliat	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Respon nyeri	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Grooming	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Ada	Ada
Urinasi	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Diare	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Salivasi	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Air mata	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Tidur	Tidak ada	Tidak ada	Ada	Ada	Tidak ada	Ada	Ada	Ada
Koma	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Kematian	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada

Tabel 4 menunjukkan efek dosis harian EEDBW selama 21 hari terhadap parameter hematologi pada hewan. Berdasarkan analisis statistik, jumlah eritrosit antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Pemeriksaan hematologi pada parameter eritrosit dapat digunakan untuk

mendiagnosa anemia atau polistemia, namun pada penelitian ini sel darah merah mencit tidak mengalami penurunan maupun peningkatan eritrosit yang diluar rentang normal jumlah eritrosit pada mencit (Kurup & Saraswathy, 2017).

Tabel 4. Analisis parameter hematologi pemerian EEDBW pada hari ke-21

Kelompok	Eritrosit (Juta/ μ L)	Leukosit (ribu/mL)	Trombosit (ribu/ mm^3)	Hb (g/dL)	HCT (juta/ μ L)	MCV (μm^3)	MCHC (%)	RDW (%)
Kontrol Normal	11,83 $\pm$ 1,10	20,30 $\pm$ 6,92	287,33 $\pm$ 50,64	17,20 $\pm$ 2,50	52,46 $\pm$ 9,35	44,03 $\pm$ 4,53	36,60 $\pm$ 1,20	20,06 $\pm$ 0,77
EEDBW 200	8,50 $\pm$ 1,85	16,80 $\pm$ 5,33	237,00 $\pm$ 60,75	13,50 $\pm$ 2,62	45,43 $\pm$ 7,81	41,36 $\pm$ 1,62	36,33 $\pm$ 1,05	19,76 $\pm$ 0,75
EEDBW 400	9,96 $\pm$ 1,00	14,83 $\pm$ 2,61	304,00 $\pm$ 43,55	15,66 $\pm$ 0,83	41,23 $\pm$ 1,98	41,43 $\pm$ 2,80	37,63 $\pm$ 01,05	18,86 $\pm$ 0,30
EEDBW 800	8,63 $\pm$ 0,94	19,43 $\pm$ 2,85	281,00 $\pm$ 107,40	13,53 $\pm$ 1,16	45,53 $\pm$ 3,43	40,93 $\pm$ 0,80	36,50 $\pm$ 1,35	19,90 $\pm$ 0,70

Pada analisis statistik hasil data jumlah leukosit, didapatkan EEDBW tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah leukosit ($p > 0,05$). Peningkatan jumlah leukosit dapat menyebabkan leukositosis, yaitu kondisi ketika peningkatan jumlah leukosit yang tidak terkontrol dapat menyebabkan anemia (Tang *et al.*, 2026). Dari perhitungan statistik, jumlah trombosit menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$). Penurunan jumlah trombosit berkaitan dengan kelainan darah yaitu trombositopenia, penurunan jumlah trombosit disebabkan karena diduga terjadinya gangguan produksi trombosit. Namun, jumlah trombosit masih berada dalam rentang normal jika dibandingkan dengan jumlah trombosit normal

Analisis statistik kadar hemoglobin menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar hemoglobin ($p > 0,05$). Pemeriksaan hematologi pada parameter hemoglobin dapat digunakan untuk menentukan tingkat anemia, namun pada penelitian ini sel darah merah menciit tidak mengalami penurunan maupun peningkatan kadar hemoglobin yang berada di luar rentang normal pada menciit (Tang *et al.*, 2026).

Berdasarkan analisis statistik data nilai hematokrit, tidak terdapat perubahan signifikan pada nilai hematokrit. Penurunan jumlah hematokrit erat kaitannya dengan keadaan anemia, namun nilai hematokrit masih berada dalam rentang normal jika dibandingkan dengan jumlah hematokrit normal (Fagan *et al.*, 2001)

Dari perhitungan statistik pada indeks

eritrosit yang terdiri dari *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC), *Red Blood Distribution Width* (RDW), dan *Mean Corpuscular Volume* (MCV) didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok menciit hewan uji. Pemeriksaan hematologi pada parameter MCHC dan RDW digunakan untuk menunjukkan tingkat anisositosis pada sel darah merah. Seluruh parameter tidak mengalami peningkatan di luar rentang normal.

Dibandingkan dengan kelompok kontrol, parameter yang diukur tidak menunjukkan perubahan yang signifikan secara statistik. Namun, semua parameter masih berada dalam kisaran normal. Parameter hematologi dapat digunakan sebagai indikator yang akurat untuk mendeteksi invasi racun berbahaya atau ekstrak tumbuhan. Temuan ini menunjukkan bahwa EEDBW tidak mengganggu sistem hematopoietik. (Askmyr, Quach & Purton, 2011). Parameter hematologi dan kimia klinis dapat digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas. Ini merupakan indikator penting dari kondisi fisiologis dan patologis pada manusia dan hewan. Setiap perubahan pada parameter hematologi diinterpretasikan sebagai kemungkinan adanya risiko anemia. Karena sistem hematologi memiliki kemampuan prediksi yang lebih baik terhadap toksisitas, analisis parameter darah bermanfaat untuk menilai Risiko (Askmyr, Quach & Purton, 2011). Dalam penelitian ini, hampir semua indikator hematologi menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.



Namun, semua parameter masih dalam kisaran normal. Temuan ini menunjukkan tidak adanya toksisitas hematologi pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh.

Meskipun penelitian ini menawarkan data yang menarik tentang toksisitas tumbuhan belimbing wuluh, penelitian ini tidak melakukan perhitungan dosis letal rata-rata dan toksisitas hanya dinilai dalam jangka waktu 21 hari. Perbandingan hasil penelitian dengan menggunakan kelompok hewan betina juga dapat memperkuat studi keamanan EEDBW.

KESIMPULAN

Studi ini menunjukkan tidak adanya kematian, morbiditas, atau perubahan perilaku umum pada mencit jantan balb/c dalam uji toksisitas subakut. EEDBW tidak menimbulkan toksisitas parah yang memengaruhi parameter hematologi. Studi ini menunjukkan bahwa EEDBW dalam rentang dosis hingga 800 mg/kg berat badan dapat ditoleransi, yang mengimplikasikan keamanan serta potensinya sebagai kandidat senyawa obat yang aman.

DAFTAR RUJUKAN

- Alhassan, A. & Ahmed, Q. (2016) 'Averrhoa bilimbi Linn.: A review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacology', *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 8(4), p. 265.
- Askmyr, M., Quach, J. & Purton, L.E. (2011) 'Effects of the bone marrow microenvironment on hematopoietic malignancy', *Bone*, 48(1), pp. 115–120.
- Aumeeruddy, M.Z. & Mahomoodally, M.F. (2020) 'Traditional herbal therapies for hypertension: A systematic review of global ethnobotanical field studies', *South African Journal of Botany*, 135, pp. 451–464.
- Badan Pengawas Obat & Makanan Republik Indonesia, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. (Volume 2) (2006). Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Fagan, K.A. *et al.* (2001) 'Upregulation of nitric oxide synthase in mice with severe hypoxia-induced pulmonary hypertension', *Respiratory Research*, 2(5), p. 306.
- Fauziah, F., Witari, D. & Kardela, W. (2020) 'Aktivitas Antihiperurisemia Fraksi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Pada Mencit Hiperurisemia', *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 4(2), pp. 27–32.
- J.B Harbone (1988) *A guide to Modern techniques of Plant analysis*. 3rd edn, Book - Chapman & Hall. 3rd edn. London: Chapman & Hall.
- Kurup, S.B. & Saraswathy, M. (2017) 'Protective potential of Averrhoa bilimbi fruits in ameliorating the hepatic key enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 85, pp. 725–732.
- Nasri, H. and Rafieian-Kopaei, M. (2014) 'Medicinal plants and antioxidants: Why they are not always beneficial?', *Iranian Journal of Public Health*, 43(2), pp. 255–257.
- Nathania, M., Wasito, E.B. & Hasanathuludhiyah, N. (2023) 'In Vitro Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi Leaves Ethanol Extract Against Salmonella typhi', *JUXTA: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga*, 14(1), pp. 43–47.
- Aristyantari, N. M. R. D., Juliasih, N. K. A., Sudaryati, N. L. G., & Arsana, I. N. (2022) 'Antibacterial activity of ethanolic extract of Averrhoa bilimbi L. fruit against Salmonella typhi', *Indonesian Journal of Pharmacology and Therapy*, 3(2), pp. 54–60.
- Rachmaini, F. *et al.* (2024) 'Sub-acute Toxicity Study of Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Del.) Aqueous Fraction on Haematological Parameters', *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(3), pp. 6519–6524.
- Tang, H. *et al.* (2026) 'Histopathological and



immunofluorescent characterization of post-sepsis immune dysregulation in a clinically relevant mouse model', *European Journal of Histochemistry*, 70(1).