

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut oral fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. Sampel daun *Averrhoa bilimbi* L. Yang digunakan diperoleh dari pohon belimbing wuluh yang terdapat di lubuk minturun kota padang. Sampel yang diperoleh kemudian diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas, melalui surat nomor 348/K-ID/ANDA/VII/2025 dengan hasil identifikasi spesies yaitu *Averrhoa bilimbi* L. dari famili Oxalidaceae. Penelitian ini dimulai dengan mengumpulkan sampel daun *Averrhoa bilimbi* L. sebanyak 4,3 kg kemudian di proses menjadi simplisia dimulai dengan pencucian, dan selanjutnya daun dikering-angunkan dengan tujuan agar kadar air yang terkandung didalam simplisia berkurang sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, tanpa mengalami kerusakan mikrobiologis atau kerusakan enzimatis (61). Sampel daun *Averrhoa bilimbi* L. yang sudah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia. Proses penghalusan simplisia dilakukan untuk memperbesar luas permukaan simplisia, sehingga kontak antara simplisia dan pelarut menjadi lebih optimal, dan proses penarikan zat aktif dapat berlangsung lebih efektif dan efisien (62).

Sediaan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. Maka dilakukan pembuatan ekstrak kental daun *Averrhoa bilimbi* L. terlebih dahulu dengan ekstraksi untuk menarik senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Pada penelitian ini dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% destilat. Metode maserasi dipilih karena tidak melibatkan pemanasan, sehingga dapat mencegah kerusakan senyawa yang bersifat termolabil. Maserasi dilakukan dalam botol kaca berwarna gelap dan diletakkan pada tempat yang terlindung dari cahaya, hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya degradasi senyawa akibat cahaya. Pemilihan etanol 70% didasarkan pada kondisi sampel yang diekstrak, yaitu berupa bahan kering dengan kadar air yang rendah. Dalam hal ini,

kandungan air sebesar 30% pada pelarut berfungsi untuk melunakkan sekaligus merobek dinding sel tanaman. Sehingga etanol dapat masuk ke dalam jaringan sel dengan lebih baik. Mekanisme ini membuat proses ekstraksi berjalan maksimal dan penyerapan zat aktif menjadi lebih efisien (63).

Tahap ekstraksi dimulai dengan maserasi sampel selama 3x 24 jam dengan pengadukan berkala. Maserat yang terbentuk kemudian disaring lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental daun *Averrhoa bilimbi* L.

Tabel 4. 1 Hasil rendemen ekstrak terstandar daun *Averrhoa bilimbi* L.

Sampel kering (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
500	135	27

Pada **Tabel 4.1** diperoleh rendemen ekstrak kental daun *Averrhoa bilimbi* L. adalah 27 %, hal ini sesuai dengan ketentuan pada Farmakope Herbal Indonesia tahun 2022 dimana rendemen ekstrak tidak kurang dari 4,5 % (64).

Setelah ekstrak kental daun *Averrhoa bilimbi* L. diperoleh, selanjutnya dilakukan proses fraksinasi untuk mendapatkan fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. fraksinasi bertujuan untuk memisahkan komponen campuran yang terdapat pada ekstrak sehingga diperoleh komponen senyawa aktif yang terkandung didalamnya (65). Pada tahap fraksinasi ini digunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, dengan tujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya, pelarut yang digunakan adalah air sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semipolar, dan n-heksan sebagai pelarut non polar. Fraksi etil asetat dipilih dalam penelitian ini karena memiliki sifat semipolar, sehingga dapat melarutkan dan memisahkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran menengah. Penggunaan pelarut semipolar seperti etil asetat efektif dalam menarik berbagai kelompok metabolit sekunder seperti flavanoid, saponin, dan alkaloid yang terbukti secara ilmiah memiliki beragam aktivitas biologis (66). Pada penelitian ini ekstrak etanol daun *Averrhoa bilimbi* L. yang digunakan untuk membuat fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* adalah

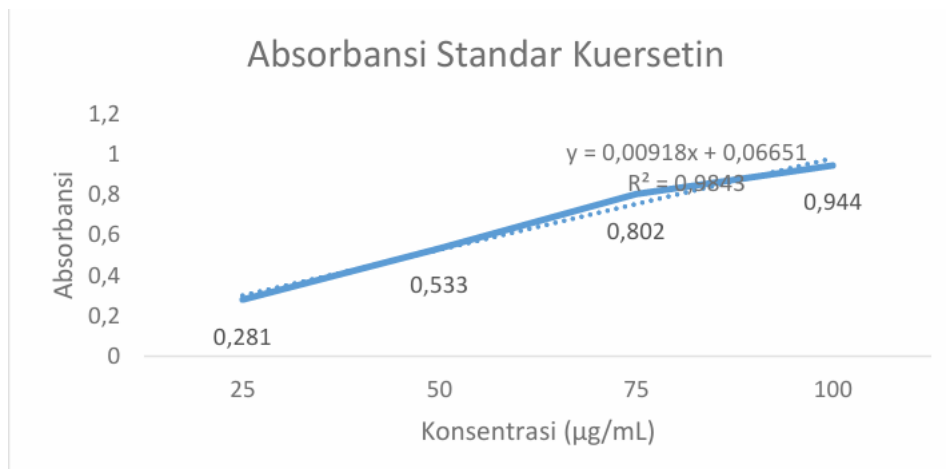
sebanyak 100 g. Rendemen fraksi etil asetat yang di peroleh dapat dilihat pada **Tabel 4.2** berikut.

Tabel 4. 2 Hasil rendemen fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L.

Ekstrak kental (g)	Fraksi yang diperoleh (g)	Rendemen (%)
100	6	6%

Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya dengan berat dari fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. diperoleh adalah 4,873 g dan diperoleh rendemen fraksi yaitu 8,12% (66). Pada tahap selanjutnya dilakukan uji kandungan kimia pada fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. melalui uji kandungan flavonoid total dengan tujuan untuk menentukan jumlah keseluruhan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak atau fraksi secara kuantitatif. Uji kandungan flavonoid total pada penelitian ini menggunakan kuersetin sebagai larutan standar. Pembuatan kurva baku kuersetin dilakukan dengan menggunakan seri konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 µg/mL. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan memindai area serapan pada rentang 300 hingga 500 nm. Hasil pemindaian menunjukkan bahwa standar kuersetin memiliki panjang gelombang maksimum pada 430 nm.

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan berdasarkan reaksi pembentukan senyawa kompleks menggunakan pereaksi alumunium klorida (AlCl_3). Reaksi ini terjadi ketika gugus hidroksil, terutama yang terdapat pada C-3 atau C-5 dan gugus karbonil pada C-4 pada struktur flavonoid mengikat ion Al^{3+} , membentuk senyawa kompleks flavonoid-alumunium yang stabil. Indikator keberhasilan reaksi ini adalah berubahnya warna larutan menjadi kuning atau kuning kecoklatan. Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena memiliki struktur khas flavonoid yang mampu berikatan stabil dengan AlCl_3 . Natrium asetat ditambahkan pada campuran tersebut dengan tujuan memastikan pembentukan kompleks antara kuersetin dengan AlCl_3 stabil selama pengujian (67).



Gambar 4.1 Grafik hubungan konsentrasi dan absorbansi kuersetin

Pada **Gambar 4.1** grafik hubungan konsentrasi dan absorbansi kuersetin menunjukkan adanya hubungan yang bersifat linear. Adanya peningkatan konsentrasi larutan menyebabkan jumlah zat aktif yang terdeteksi oleh spektrofotometer semakin besar, akibatnya nilai absorbansi yang dihasilkan juga mengalami peningkatan. Melalui kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbansi larutan standar kuersetin diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,00918x + 0,06651$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2=0,9843$ yang menunjukkan bahwa tingkat linearitas sangat baik dengan persyaratan nilai korelasi yaitu berada pada rentang $-1 < 0 < 1$ (68). Selanjutnya dilakukan penetapan kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. dilakukan dengan menggunakan persamaan tersebut sebagai dasar perhitungan. Hasil perhitungan kadar flavonoid total fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. adalah sebesar 11,425%. hasil ini lebih tinggi dari kadar flavonoid total pada ekstrak daun *Averrhoa bilimbi* yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya, yaitu sebesar 0,9607% (5) .

Setelah tahap standarisasi fraksi, penelitian dilanjutkan dengan uji toksisitas akut fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. pengujian ini menggunakan tikus putih betina sebagai hewan uji karena lebih sensitif terhadap nilai LD_{50} dibandingkan tikus putih jantan (29). Hewan uji yang digunakan sebanyak 25 ekor, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Sebelum diberi perlakuan, hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari agar bisa beradaptasi dengan lingkungan barunya. Tikus yang digunakan sebagai hewan uji merupakan tikus yang sehat, dan tidak mengalami perubahan berat badan

lebih dari 10% dan memiliki tingkah laku yang normal (69). Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan pada hari pertama dan terakhir. Pembagian kelompok hewan uji terdiri dari 1 kelompok kontrol yang diberikan suspensi NaCMC 0,5% dan 4 kelompok perlakuan yang diberikan suspensi fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB.

Pemilihan dosis yang akan digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan pada metode *fixed dose* yang tercantum dalam peraturan BPOM No.10 tahun 2022. Sediaan uji diberikan secara oral dengan beberapa tingkatan dosis. Sebelum diberikan perlakuan, hewan uji dipuasakan selama 14-18 jam (9). Setelah dipuasakan hewan uji ditimbang dan diberikan sediaan uji. Selanjutnya dilakukan observasi terhadap gejala toksik seperti lemas, diare, tremor, dan jalan mundur pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji. Pengamatan dilakukan secara periodik selama 4 jam pertama setelah pemberian sediaan uji. Pengamatan gejala toksik dilanjutkan selama 14 hari. Hewan uji dikorbankan pada hari ke-15, untuk diambil organ ginjal dan organ jantungnya setelah itu ditimbang dan dihitung rasio kedua organ tersebut. Selanjutnya dilakukan pengamatan histopatologi terhadap organ ginjal.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap gejala toksik selama 14 hari berupa lemas, diare, tremor, jalan mundur, yang dapat dilihat pada **Tabel 4.3** berikut

Tabel 4. 3 Hasil Pengamatan Gejala Toksik

Gejala Toksik	Kelompok Uji				
	Kontrol	5 mg/kgBB	50 mg/kgBB	300 mg/kgBB	2000 mg/kgBB
Lemas	-	-	-	-	-
Diare	-	-	-	-	-
Tremor	-	-	-	-	-
Jalan mundur	-	-	-	-	-

Keterangan : (-) = Tidak Bergejala

Pada **Tabel 4.3** pengamatan gejala toksisitas, gejala toksik diamati pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. dimana pada pengamatan ini tikus masih menunjukkan perilaku yang normal, dan tidak

terdapat gejala lemas, diare, tremor ataupun berjalan mundur. Kemudian pengamatan dilanjutkan selama 4 jam setelah pemberian sediaan uji dan selama 14 hari untuk melihat efek toksisitas tertunda. pada kelompok kontrol, dan perlakuan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 2000mg/kgBB tikus masih bergerak aktif dan menunjukkan perilaku yang normal setelah pemberian sediaan uji. Gejala toksik diamati setiap hari selama 30 menit untuk masing-masing kelompok uji.

Selama 14 hari masa pengamatan juga diamati kematian yang terjadi pada hewan uji. Pada penelitian ini, digunakan dosis 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB. Dimana sampai dosis tertinggi yaitu dosis 2000 mg/kgBB tidak terdapat hewan uji yang mati, untuk itu penentuan LD₅₀ tidak dilanjutkan karena hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. termasuk kategori 5/*unclassified* yang berarti fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. memiliki toksisitas akut yang relatif rendah, karena LD₅₀ > 2000 mg/kgBB. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Vina (2018) ditingkat ekstrak, di mana ekstrak etanol daun belimbing wuluh tidak menimbulkan kematian dan tidak terdapat gejala toksik pada hewan uji kelompok kontrol normal dan kelompok dosis 2000mg/kgBB (12).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap volume urin dan volume minum 24 jam pada tikus, pengamatan dilakukan pada hari ke 1, 3, 5, 7, 9, 11, dan 13. Data volume urin dan volume minum dianalisis menggunakan program SPSS (*statistical product and service solution*), namun karena data tidak terdistribusi dengan normal, maka dilanjutkan dengan uji non-paramterik kruskal walis untuk melihat pengaruh dosis dan hari pengamatan terhadap volume urin tikus (70)

Tabel 4. 4 Pengaruh variasi dosis teradap volume urin dan volume minum tikus putih

Dosis	Rata-rata Volume Urin ± SE	Rata-rata Volume Minum ± SE
Kontrol	4,989 ± 0,513	7,743 ± 0,538
5 mg/kgBB	5,443 ± 0,756	8,800 ± 0,934
50 mg/kgBB	6,683 ± 0,398	10,314± 1,053
300 mg/kgBB	5,751 ± 0,533	9,943 ± 0,728
2000 mg/kgBB	5,091 ± 0,684	8,743 ± 0,798
Rata-rata ± SE	5,591 ± 0,5768	9,108 ± 0,810

Tabel 4. 5 Pengaruh hari pengamatan terhadap volume urin dan volume minum tikus

Hari Pengamatan	Rata-rata Volume Urin $\pm$ SE	Rata-rata Volume Minum $\pm$ SE
1	3,492 $\pm$ 0,248	8,640 $\pm$ 0,382
3	2,780 $\pm$ 0,296	7,240 $\pm$ 0,569
5	5,188 $\pm$ 0,601	9,000 $\pm$ 1,064
7	6,804 $\pm$ 0,862	9,960 $\pm$ 1,376
9	7,604 $\pm$ 0,890	10,280 $\pm$ 1,019
11	7,164 $\pm$ 0,978	9,600 $\pm$ 1,163
13	6,108 $\pm$ 0,893	9,040 $\pm$ 0,965
Rata-rata $\pm$ SE	5,591 $\pm$ 0,681	9,108 $\pm$ 0,934

Hasil analisis menggunakan kruskal walis menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna pada pemberian variasi dosis fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* terhadap volume urin tikus ($p > 0,05$) (Lampiran 3, Tabel 17, Tabel 18), di mana pada **Tabel 4.4** rata-rata volume urin pada kelompok kontrol adalah 4,989 ml, dan rata-rata volume urin pada kelompok 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 5,433 ml, 6,683 ml, 5,751 ml, dan 5,091 ml, dan juga tidak terdapat pengaruh yang bermakna pada setiap hari pengamatan terhadap volume urin tikus, dengan rata-rata volume urin pada hari ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, ke-9, ke-11, dan ke-13 secara berturut-turut adalah 3,492 ml, 2,780 ml, 5,188 ml, 6,804 ml, 7,604 ml, 7,164 ml, dan 6,108 ml. Dan rata-rata volume urin tikus adalah 5,591 ml, namun volume ini berada dibawah volume normal urin tikus. Ketika tikus diberikan minum *ad libitum* selama 24 jam maka volume urinnnya adalah $11,7 \pm 1,6$ ml, dan dalam kondisi kelebihan air volume urin tikus dapat menjadi $51,8 \pm 5,7$ ml (71). Sementara hasil analisis menggunakan kruskal walis juga menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna pada pemberian variasi dosis fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. dan waktu pengamatan terhadap volume minum tikus ($p > 0,05$) (Lampiran 3, Tabel 19, Tabel 20). Dimana pada tabel 4.5 rata-rata volume minum pada kelompok kontrol, dosis 5mg/kgBB, 50mg/kgBB, 300mg/kgBB, dan 2000mg/kgBB secara berturut-turut adalah 7,743 ml, 8,800 ml, 10,314 ml, 9,943 ml, dan 8,743 ml, dan rata-rata volume minum pada hari ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, ke-9, ke-11, dan ke-13 secara berturut-turut adalah 8,640 ml, 7,240 ml, 9,000 ml, 9,960 ml, 10,280 ml, 9,600

ml, dan 9,040 ml. Rata-rata volume minum tikus berada dibawah rentang normal volume minum tikus yaitu 10-12 ml per 100 gram per hari (72)

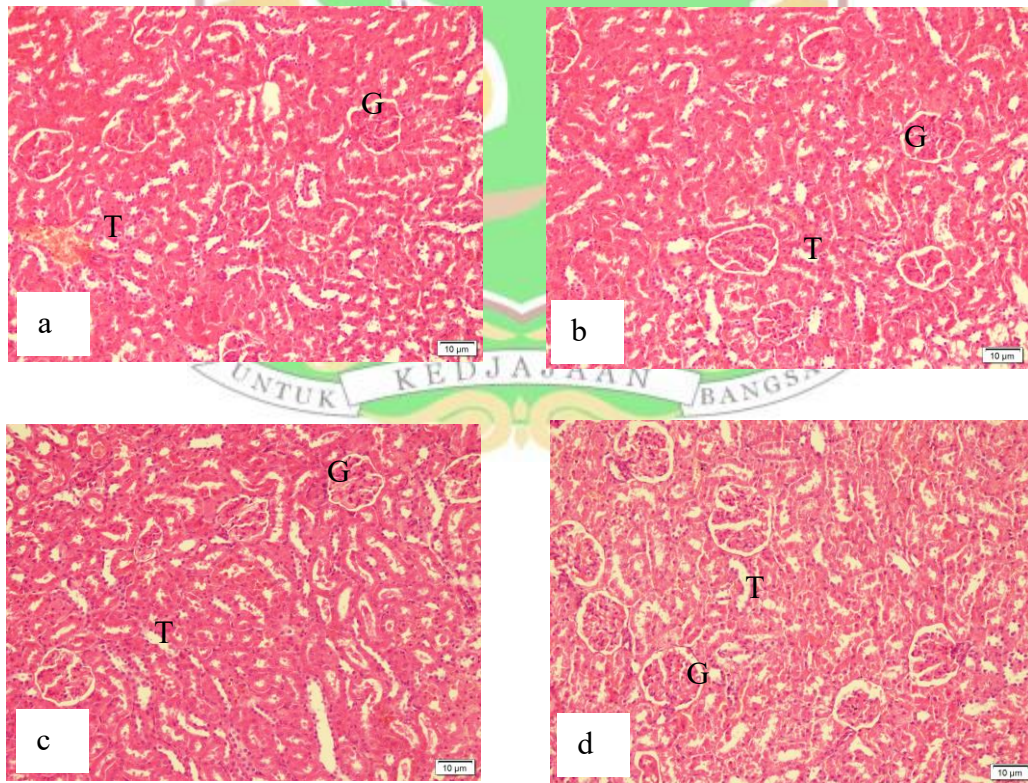
Penurunan volume urin tikus dapat terjadi karena faktor stress yang terjadi pada tikus, penggunaan kandang metabolit dapat menjadi pemicu stress pada tikus, dan mempengaruhi perilaku makan dan minum, penurunan berat badan, dan perubahan pada beberapa faktor fisiologis (73). Hal ini sejalan dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, dimana terdapat perubahan pada perilaku minum hewan uji, sehingga ketika sedang berada didalam kandang metabolik, hewan uji cenderung minum lebih sedikit air, sehingga volume urin yang dihasilkan juga menjadi lebih sedikit dibandingkan dengan volume urin normal tikus.

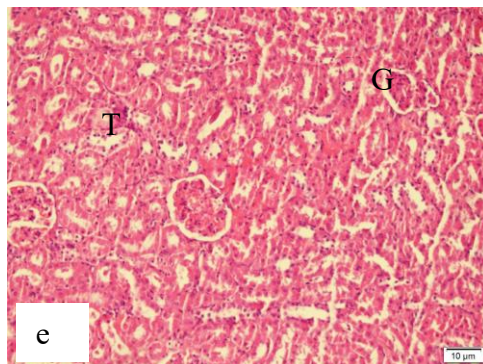
Setelah masa pengamatan selama 14 hari, hewan uji dinekropsi pada hari ke-15 untuk diambil organ ginjal, dan jantungnya, kemudian dilakukan penimbangan organ ginjal dan jantung untuk menghitung rasio organ, setelah itu dilakukan pengamatan histopatologi pada organ ginjal tikus. Pengamatan histopatologi sering dilakukan untuk mengamati perubahan morfologi organ untuk penilaian keamanan preklinik secara in vivo (29). Pemilihan organ ginjal untuk dilakukan pengamatan histopatologinya karena ginjal merupakan organ filtrasi dan sekresi utama yang sangat penting dalam menyaring dan mengeluarkan zat sisa metabolisme tubuh, termasuk senyawa toksik maupun racun yang masuk kedalam tubuh (10). Organ ginjal yang diambil kemudian dibilas menggunakan NaCl fisiologis untuk membersihkan darah yang menempel pada organ agar darah tersebut tidak bercampur dengan larutan buffer formalin sehingga proses fiksasi sampel dapat berlangsung dengan optimal (74)

NaCl fisiologis digunakan karena larutan NaCl fisiologis (NaCl 0,9%) bersifat isotonis sehingga tidak terjadi lisis pada sel. Kemudian dilanjutkan dengan fiksasi sampel menggunakan larutan buffer formalin. Dimana larutan buffer formalin dapat mencegah pembusukan dan dapat menghentikan aktivitas sel. Proses fiksasi dilakukan agar organ tetap berada dalam keadaan '*life-like-state*' yaitu keadaan yang mencegah terjadinya autolisis, degenerasi jaringan dan mempertahankan bentuk organ, agar saat

dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dapat memberikan hasil yang sama seperti kondisi saat jaringan masih hidup (74)

Pembacaan slide histopatologi dibantu oleh dokter hewan di Laboratorium Patologi Anatomi, Balai Veteriner Bukit Tinggi. Slide histopatologi diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan 200x. Perbesaran 100x digunakan untuk melihat histopatologi jaringan yang homogen, sementara perbesaran 200x digunakan untuk melihat kelainan sel secara jelas. Penilaian kerusakan sel dilakukan secara deskriptif dan skoring kerusakan organ dilakukan menggunakan metode sistem skoring oleh *Ayesha Ahmed et al* (2012) dengan menggunakan skala 0 sampai 5. Dimana skor 0 dapat diartikan sebagai histologi normal, skor 1 menandakan terjadinya kerusakan minimal, skor 2 menandakan kerusakan ringan, skor 3 menandakan kerusakan sedang, skor 4 menandakan kerusakan berat dan skor 5 menandakan kerusakan sangat berat (60).





Keterangan: a: kontrol; b: 5mg/kgBB; c: 50mg/kgBB; d: 300mg/kgBB; e: 2000mg/kgBB; G: Glomerulus; T: Tubulus

Gambar 4. 2 Gambaran Histologi Tikus

Berdasarkan hasil pengamatan, pemberian fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* L. pada kelompok kontrol, kelompok dosis 5mg/kgBB, 50mg/kgBB, 300mg/kgBB, dan 2000mg/kgBB menunjukkan glomerulus dan tubulus tersusun rapi dan tidak ditemukan adanya radang, degenerasi sel, dan nekrosis. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Utomo dkk, 2020) dimana pemberian ekstrak daun belimbing wuluh pada tikus model hiperurisemia dapat memperbaiki kerusakan glomerulus ginjal dan menurunkan kadar kreatinin (75).

Fraksi etil asetat daun belimbing wuluh juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid yang berperan sebagai antioksidan sehingga dapat melindungi struktur sel epitel tubuh termasuk ginjal (75). Antioksidan dapat mengurangi kerusakan sel yang memperburuk kondisi ginjal, dengan mengurangi oksidasi sel. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dan menghambat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) melalui mekanisme penghambatan enzim yang terlibat dalam produksi ROS, seperti xantin oksidase. Selain itu flavonoid juga dapat mengeliminasi radikal bebas secara langsung, sehingga melindungi sel dari kerusakan oksidatif (76) Flavonoid membantu melindungi ginjal dari kerusakan dan peradangan yang bisa menyebabkan gagal ginjal. Selain sebagai antioksidan, flavonoid juga mempunyai sifat anti-inflamasi yang dapat mengurangi peradangan kronis pada ginjal. Secara umum efek anti-

inflamasi dan antioksidan dari flavonoid tidak hanya berkontribusi dalam melindungi ginjal tetapi juga dapat membalikkan proses fibrosis ginjal serta mengurangi kerusakan jaringan (77).

Flavonoid memiliki keunggulan dalam pencegahan gagal ginjal jika dibandingkan senyawa lain yang juga memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi. Flavonoid tidak hanya melindungi ginjal dari kerusakan, tetapi juga memperbaiki fungsi ginjal yang sudah terganggu akibat paparan zat nefrotoksik. Flavonoid dapat mencegah gagal ginjal karena memiliki kemampuan melarutkan kalsium. Flavonoid dapat melarutkan kalsium oksalat yang merupakan salah satu penyebab utama pembentukan batu ginjal. Senyawa flavonoid berinteraksi dengan kalsium membentuk kompleks yang lebih larut, sehingga memudahkan untuk diekskresikan melalui urin. Efek diuretik pada flavonoid juga mencegah reabsorpsi ion seperti Na^+ , K^+ , dan Cl^- pada ginjal, yang meningkatkan diuresis. Dengan meningkatnya laju glomerulus, zat-zat yang berbahaya dapat dikeluarkan lebih cepat dan dapat mengurangi resiko kerusakan ginjal. Flavonoid dapat menghambat proses inflamasi dengan mengurangi produksi mediator inflamasi seperti prostaglandin (78).

Stress oksidatif, hipertensi arteri, peradangan, dan paparan zat toksik merupakan faktor-faktor yang dapat berkontribusi terhadap kesehatan ginjal. Flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun belimbing wuluh. Flavonoid bekerja langsung pada parenkim ginjal, flavonoid memberikan efek nefroprotektif pada berbagai kondisi seperti glomerulonefritis, nefropati diabetik, serta infusensi ginjal yang diinduksi secara kimiawi. Salah satu mekanisme utama flavonoid dalam merespon radang adalah melalui penghambatan jalur NF- κ B. Mekanisme ini bekerja dengan cara memblokir fosforilasi dan degradasi *inhibitor kappa B kinase* (I κ B), sehingga ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF α , IL-6, dan IL-1 β dapat dicegah. Penurunan produksi sitokin tersebut pada akhirnya mampu meminimalkan infiltrasi leukosit ke dalam jaringan ginjal. Selain sebagai antiinflamasi, flavonoid berperan dalam melindungi ginjal dari stres oksidatif melalui penurunan ekspresi iNOS serta penghambatan aktivitas MPO yang disekresikan oleh neutrofil. Intervensi ini

berdampak pada berkurangnya pembentukan spesies reaktif yang berpotensi memicu kerusakan jaringan (78).

Tabel 4. 6 Pengaruh dosis fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* terhadap nilai rata-rata skor histologi ginjal dan jantung tikus putih betina

Dosis	Rata-rata Skor Histologi Ginjal $\pm$ SD
Kontrol	0,240 $\pm$ 0,167
5 mg/kgBB	0,200 $\pm$ 0,141
50 mg/kgBB	0,360 $\pm$ 0,167
300 mg/kgBB	0,400 $\pm$ 0,244
2000 mg/kgBB	0,400 $\pm$ 0,141
Rata-rata $\pm$ SD	0,320 $\pm$ 0,172

Skor kerusakan histologi ginjal dianalisis menggunakan *statistical product and service solution* (SPSS) dengan ANOVA 1 arah, jika didapatkan hasil yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna dilakukan uji lanjutan dengan posthock untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan satu sama lain. Skor kerusakan histologi menunjukkan tidak ada pengaruh yang bermakna antara skor histologi terhadap dosis ($p > 0,05$) (Lampiran 3, Tabel 9). Dengan rata-rata skor histologi 0,320.

Pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan terhadap rasio organ ginjal. Rasio organ ginjal kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Nilai rasio organ dapat diperoleh dengan cara membagi berat organ dengan berat badannya (58). Kemudian diperoleh rata-rata rasio organ perkelompok seperti pada Tabel 4.7 berikut.

Tabel 4. 7 Pengaruh dosis fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* terhadap nilai rata-rata rasio organ ginjal tikus putih betina

Dosis	Rata-rata Rasio Organ Ginjal $\pm$ SD	Rata-rata Rasio Organ Jantung $\pm$ SD
Kontrol	0,0075 $\pm$ 0,0008	0,0034 $\pm$ 0,0001 ^c
5 mg/kgbb	0,0069 $\pm$ 0,0006	0,0031 $\pm$ 0,0001 ^{ab}
50 mg/kgbb	0,0074 $\pm$ 0,0005	0,0029 $\pm$ 0,0001 ^a
300 mg/kgbb	0,0076 $\pm$ 0,0005	0,0030 $\pm$ 0,0001 ^{ab}
2000 mg/kgbb	0,0074 $\pm$ 0,0007	0,0030 $\pm$ 0,0001 ^{bc}
Rata-rata $\pm$ SD	0,0074 $\pm$ 0,0006	0,0030 $\pm$ 0,0001

Analisis data rasio organ dilakukan dengan uji ANOVA 1 arah menggunakan bantuan *software* SPSS. Berdasarkan hasil analisis yang didapatkan tidak terdapat

pengaruh yang bermakna antara rasio organ ginjal dengan variasi dosis fraksi etil asetat daun *Averrhoa bilimbi* yang diberikan ($p>0,05$) (Lampiran 3, Tabel 12). Jika dilihat dari rata-rata rasio organ yang didapatkan, rata-rata antar kelompok hampir sama, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh (Vina, 2018) pada uji toksisitas akut ekstrak daun belimbing wuluh, dimana tidak terdapat perbedaan bermakna pada makroskopis organ ginjal (12).

Pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan terhadap rasio organ jantung tikus putih betina. Rasio organ jantung kelompok perlakuan dibandingkan dengan rasio jantung kelompok kontrol. Analisis data rasio jantung dilakukan dengan uji anova 1 arah menggunakan *software* SPSS. Dari data analisis yang didapatkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0.05$). Hasil ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Vina, 2018), di mana ekstrak etanol daun belimbing wuluh tidak berpengaruh terhadap makroskopis organ jantung (12). Hasil uji lanjut Tukey menunjukkan bahwa kelompok dosis 50 mg/kgBB memiliki rasio organ jantung yang berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol, namun perbedaan tersebut tidak diikuti pola yang konsisten pada kelompok dosis yang lebih tinggi, yaitu dosis 300mg/kgBB dan 2000mg/kgBB. Hasil uji tukey menunjukkan bahwa kelompok dosis 50mg/kgBB berada pada subset yang berbeda dengan kelompok kontrol, sementara kelompok dosis 2000 mg/kgBB berada pada subset yang sama dengan kelompok kontrol, sehingga perubahan rasio jantung tidak mengikuti hubungan dosis-respons. Dalam studi toksikologi perubahan rasio organ merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mendeteksi adanya efek biologis suatu senyawa, namun dalam mengimplementasikannya diperlukan data penunjang lain seperti pemeriksaan histopatologi (79).

Pada penelitian ini, rata-rata rasio organ mengalami penurunan pada kelompok dosis 50mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun rasio organ jantung kembali meningkat pada kelompok dosis 300mg/kgBB dan 2000mg/kgBB. Berdasarkan data ini, tidak ditemukannya pola peningkatan atau penurunan yang

searah dengan kenaikan dosis, dimana hal ini tidak memperlihatkan hubungan dosis-respon yang jelas. Perubahan hanya terjadi pada satu kelompok dosis tanpa diikuti kecenderungan serupa pada dosis yang lebih tinggi, hal ini mungkin terjadi karena terdapat variasi biologis pada hewan uji. Setiap individu memiliki respon fisiologis dan farmakologis yang berbeda terhadap senyawa uji. Variasi biologis ini dapat mempengaruhi berat badan, maupun berat organ sehingga menyebabkan perbedaan nilai rata-rata antar kelompok (80).

Rasio organ juga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah berat badan, berat organ, penurunan aktivitas metabolik, penurunan beban kerja organ. Penurunan rasio berat organ jantung mencerminkan adaptasi biologis agar terjadi keseimbangan pada saat mendapatkan beban kerja baru yang lebih ringan (79). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Novitri, dkk, 2020), ekstrak daun belimbing wuluh memiliki efek antihipertensi dengan menurunkan tekanan darah sistol dan diastol (81). Penurunan tekanan darah akan menurunkan resistensi perifer total yang yang dikembalikan oleh bilik jantung saat memompa darah. Berkurangnya beban tekanan ini memicu terjadinya fenomena yang dikenal sebagai *hemodynamic unloading* atau *mechanical unloading* pada organ jantung. Dalam kondisi unloading, sel-sel otot jantung mengalami penyusutan ukuran sebagai bentuk efisiensi biologis agar konsumsi energi (ATP) dan kebutuhan oksigen miokardium menjadi lebih rendah. Proses remodeling atrofik ini secara makroskopis ditandai dengan penurunan berat organ jantung secara nyata tanpa disertai dengan adanya kematian sel (82).