

Immunomodulatory Potential of Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) Extract on Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) Values in Mice Induced by *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium

Yessy Sabna Sari Manalu, Revis Asra, Fitra Wahyuni*

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia;

Article History

Received : June 11th, 2026

Revised : August 05th, 2026

Accepted : August 13th, 2026

*Corresponding Author: **Fitra**

Wahyuni, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia;
Email:

fitra.wahyuni88@unja.ac.id

Abstract: Infectious illnesses continue to be a significant health issue around the globe, especially in underdeveloped nations like Indonesia. *Salmonella* is a type of bacteria that leads to widespread infections. According to the World Health Organization (WHO), there were 9 million instances of typhoid fever in 2019, causing about 110,000 fatalities each year. Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) is a type of plant that has secondary metabolites capable of affecting the immune system. The purpose of this study was to determine the effect of starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) fruit extract on the Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) value in mice infected with *Salmonella typhimurium* bacteria. The method used in this study was a true experimental study with a Completely Randomized Design (CRD). The collected data were evaluated using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software, which included tests for homogeneity and normality, followed by additional analysis with the Duncan Multiple Range Test (DMRT). The findings of the research revealed that the extract from starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) consists of secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and triterpenoids. These secondary metabolites serve as immunomodulators and may influence Neutrophil-lymphocyte Reactivity (NLR), as shown by a statistical analysis ($p < 0.05$) in mice infected with *Salmonella typhimurium* at doses of 700mg per kg of body weight.

Keywords: Immunomodulatory; Phytochemical test; Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.).

Pendahuluan

Infeksi *Salmonella* merupakan salah satu penyakit yang paling banyak ditemui di kalangan masyarakat salah satunya Indonesia. Secara global *Salmonella* adalah salah satu agen patogen zoonosis terpenting, yang mengakibatkan sekitar 93,8 juta kasus gastroenteritis di seluruh dunia mencapai 155.000 kematian setiap tahunnya (Galán-Relaño *et al.*, 2023). *World Health Organization* (2023), melaporkan bahwa pada 2019 terdapat sekitar 9 juta kasus demam tifoid dengan 110.000 kematian pertahunnya. Demam tifoid secara khusus disebabkan oleh *Salmonella Typhimurium* (Kasim, 2020), bakteri ini adalah bakteri patogen yang bersifat spesifik kepada manusia dan tidak mampu menginfeksi mencit

secara sistemik. Sehingga untuk penelitian eksperimental mempelajari mekanisme infeksi sistemik yang menyerupai tifoid pada hewan coba menggunakan *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.

Salmonella Typhimurium adalah bakteri memiliki rentang inang yang luas seperti hewan pengerat, sapi, dan mamalia. *S. Typhimurium* tidak menyebabkan tifoid pada manusia, tetapi dapat menimbulkan infeksi sistemik pada mencit dengan manifestasi klinis yang paralel dengan demam tifoid manusia, seperti bakteremia, hepatosplenomegali, inflamasi sistemik, dan perubahan jumlah leukosit. Bakteri ini merupakan model standar untuk penelitian *murine typhoid* dan banyak digunakan untuk mengevaluasi efektivitas imunomodulator dalam

penelitian sains biomedik (Walker *et al.*, 2023).

Saat ini terapi utama yang digunakan sebagai pengobatan demam tifoid adalah antibiotik, hal ini yang dapat mengakibatkan resistensi. Antibiotik adalah obat yang paling sering diresepkan untuk mengobati penyakit akibat bakteri. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa sekitar 40–62% resep antibiotik tidak tepat. Penggunaan yang tidak tepat ini dapat menyebabkan penyalahgunaan antibiotik, yang berujung pada berkembangnya resistensi antibiotik (Hazimah *et al.*, 2018). Resistensi antibiotik yang meningkat menuntut pengendalian penggunaan antibiotik agar lebih bijaksana dan perbaikan sanitasi dalam mengurangi risiko infeksi bakteri (Malaka *et al.*, 2023; Nasrun *et al.*, 2023).

Meningkatnya resistensi antibiotik akibat penggunaan yang tidak tepat telah mendorong penelitian terhadap pilihan pengobatan tambahan, termasuk agen imunomodulator alami. Imunomodulator yang juga disebut sebagai pengubah respons biologis adalah zat yang memengaruhi sistem kekebalan tubuh dengan cara memperbaiki fungsi kekebalan yang melemah (imunorestorasi), meningkatkan respons kekebalan (imunostimulasi), atau meredam respons kekebalan yang terlalu aktif (imunosupresi). Berbeda dengan antibiotik yang bekerja secara langsung membunuh atau menghambat pertumbuhan patogen, imunomodulator meningkatkan atau menyeimbangkan respons imun tubuh sehingga mampu melawan infeksi secara alami dan lebih efektif. Suatu agen imunomodulator dapat dievaluasi melalui perubahan parameter imun, salah satunya *Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio* (NLR). NLR merupakan biomarker sederhana yang menggambarkan respons imun dan inflamasi sistemik melalui perbandingan jumlah neutrofil sebagai komponen imunitas bawaan dengan limfosit sebagai komponen imunitas adaptif. Variasi nilai NLR mencerminkan keseimbangan antara kedua elemen tersebut; oleh karena itu, nilai ini dapat menjadi indikator untuk mengevaluasi sejauh mana suatu zat imunomodulator mampu memengaruhi respons imun selama berlangsungnya infeksi (Gede, 2021).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai imunomodulator yang dikenal luas karena berbagai khasiat obatnya dan mudah

ditemukan di lingkungan sekitar adalah *Averrhoa bilimbi* L. (sering disebut sebagai belimbing wuluh). Spesies tropis ini banyak dijumpai di Indonesia dan diketahui mengandung flavonoid, tanin, saponin, serta berbagai senyawa fenolik lainnya yang dapat memengaruhi respons imun (Saraswati & Setyaningsih, 2018). Namun, bukti eksperimental mengenai efek imunomodulator buah belimbing wuluh pada model infeksi bakteri sistemik masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi potensi imunomodulator ekstrak buah belimbing wuluh pada mencit yang diinfeksi *S. Typhimurium*, dengan menggunakan parameter *rasio neutrofil–limfosit* (NLR) sebagai indikator respons imun sistemik awal. Hasil penelitian diharapkan memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan bahan alam sebagai pendukung modulasi sistem imun.

Bahan dan Metode

Alat dan bahan

Alat penelitian ini yaitu Alat yang digunakan meliputi Latex, Masker, Kandang Mencit, Jarum Sonde, Mikroskop, Neraca Analitik, Tabung reaksi, Blender, Pipet tetes, Oven, Cover Glass, Microtips dan mikropipet, Spatula, Beaker gelas, Erlenmeyer, Gelas Ukur, Alat Tulis, Pisau, Baskom, Gunting, Aluminium Foil, Rotary Evaporator, Batang Pengaduk, Vortex, Timbangan SF-400, *Refrigerator*, *Colony counter*, Mikrotube, Botol sampel, Rak Tabung, Botol kaca gelap, Alat bedah, Magnetik stirrer, Inkubator, Kertas saring, Spuit 1cc, Hot plate dan stirrer, Batang L, Jarum ose, Autoklaf, *Laminar Air Flow*, dan Hematokrit.

Bahan penelitian ini yaitu Bahan yang digunakan meliputi Buah Belimbing Wuluh, Mencit (*Mus musculus*), Akuades, Bakteri *S. Typhimurium*, Alkohol 70%, Pakan Mencit, Sekam padi, Etanol 96%, Klorofom, Pewarna Giemsa, PBS 1x, NaCl 0,9 %, Media SSA, Levamisol, Formalin, CMC Na, Pbs 1x, HCl, Reagen mayer, Reagen dragendroft, Serbuk Mg, Akuades, FeCl₃ 1%, CH₃COOH, dan H₂SO₄.

Prosedur penelitian

Pengambilan dan preparasi sampel

Sampel buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) diambil secara langsung dari tanaman masyarakat di kelurahan Bagan Pete, Kec. Alam

Barajo, Kota Jambi, Prov. Jambi dengan ciri-ciri berupa buah bentuk lonjong, permukaan halus dan licin berwarna hijau dan dipilih dalam kondisi segar atau tidak busuk. Selanjutnya, sampel dibilas dengan air bersih untuk menghilangkan tanah atau benda asing yang menempel pada buah, lalu ditiriskan untuk membuang kelebihan air.

Kemudian, sampel yang telah kering dipotong menjadi irisan tipis dan dikeringkan di dalam oven selama 48 jam pada suhu 50°C. Untuk menghasilkan simplisia (bahan baku obat), buah kering tersebut dihaluskan menggunakan blender, dan bubuk yang diperoleh diayak menggunakan saringan ukuran 60 mesh guna memperluas luas permukaan bahan, sehingga memaksimalkan interaksi antara sampel dan pelarut (Fitriani & Latifudin, 2025).

Ekstraksi buah belimbing wuluh

Ekstraksi merupakan proses pemisahan atau pengambilan zat tertentu dari suatu bahan (padat atau cair) menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan etanol 96% suatu pelarut polar yang efektif untuk memperoleh metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Adriana *et al.*, 2024). Sebanyak 500 g simplisia (bahan tanaman kering) ditimbang dan dimaserasi selama 72 jam (3 kali 24 jam) dalam 5 liter etanol 96%, dengan mempertahankan rasio simplisia terhadap pelarut sebesar 1:10 (b/v). maserasi dilakukan dalam botol gelap guna untuk menghalangi cahaya dan di aduk setiap 3 jam sekali. Selanjutnya, dilakukan penyaringan untuk memisahkan supernatan dari endapan, diikuti dengan penguapan untuk memisahkan pelarut dari larutan pekat. Selama proses ini, sebagian air atau pelarut diuapkan untuk menghasilkan produk kental (konsentrat), kemudian rendemennya dihitung (Ismiyati & Sari, 2020).

Skrinning fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi jenis-jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel buah belimbing wuluh. Sebagaimana dinyatakan oleh Mutmainnah (2017), pemeriksaan fitokimia meliputi:

Uji Alkaloid

Masukkan 0,5 g ekstrak pekat buah *Averrhoa bilimbi* dalam tabung reaksi. Selanjutnya, tambahkan 1 mL HCl dan 9 mL akuades, lalu saring campuran tersebut. Bagi cairan hasil penyaringan menjadi tiga bagian yang sama besar. Setelah itu, tambahkan masing-masing 2 tetes reagen Mayer dan reagen Dragendorff ke dalam setiap sampel. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan pada penggunaan reagen Mayer, serta endapan berwarna kuning hingga jingga pada penggunaan reagen Dragendorff.

Uji Flavonoid

Pemeriksaan ini melibatkan penempatan 0,5 g ekstrak pekat ke dalam tabung reaksi, kemudian penambahan bubuk Mg dan 2 mL HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi oranye atau merah.

Uji Saponin

Pengujian ini dilakukan dengan memasukkan 0,5 g ekstrak ke dalam tabung reaksi, menambahkan 10 ml air suling, mengocok tabung ke atas dan ke bawah selama 10 detik, lalu mendingkannya selama 10 detik. Hasil dinyatakan positif jika terbentuk busa yang stabil dan bertahan selama minimal 10 menit.

Uji Tanin/Polifenol

Metode pelaksanaan uji ini mengharuskan penimbangan 0,5 g ekstrak sampel dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, etanol ditambahkan hingga sampel terendam sepenuhnya. Selanjutnya, ditambahkan 2–3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditandai dengan munculnya padatan berwarna biru-hitam atau kehijauan di dalam larutan.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Prosedur kerja ini adalah dengan cara menimbang ekstrak kental sejumlah 0,5 gram, kemudian ditambahkan CH₃COOH anhidrat sebanyak 0,5 ml. Melalui dinding tabung kemudian ditambahkan 2 ml H₂SO₄. Dilakukan pengamatan berupa perubahan warna. Apabila terdapat perubahan warna menjadi merah atau coklat kemerahan maka uji tersebut positif triterpenoid, sedangkan jika terbentuk endapan berwarna hijau maka uji tersebut positif steroid.

Rancangan dan Subjek penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang merupakan rancangan sederhana dan memiliki keuntungan karena seluruh hewan percobaan berada pada kondisi lingkungan yang relatif homogen dan memungkinkan pembagian kelompok perlakuan secara acak, sehingga meminimalkan pengaruh faktor perancu yang tidak diinginkan (Arib et al., 2024; A. S. Rahmawati & Erina, 2020). Penelitian dirancang untuk mengevaluasi potensi imunomodulator ekstrak buah belimbing wuluh pada mencit yang mengalami infeksi *Salmonella Typhimurium* dengan dosis yang berbeda melalui penilaian parameter NLR.

Penelitian ini menggunakan 26 Ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur 12-20 minggu. Hewan dipelihara dalam kandang standar dengan siklus pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap, suhu ruang $25\pm 28^{\circ}\text{C}$, serta diberikan pakan dan air minum secara *ad libitum*. Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi selama 7 hari untuk adaptasi terhadap lingkungan.

Mencit dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yang terdiri dari P0 (kontrol normal), P1 (kontrol positif dengan pemberian Levamisole 0,63 mg/KgBB), P2 (kontrol negatif dengan pemberian CMC 0,5%), P3 (pemberian ekstrak buah belimbing wuluh (dengan dosis 420 mg/kgBB), P4 (pemberian ekstrak buah belimbing wuluh dengan dosis 560 mg/kgBB), dan P5 (pemberian ekstrak buah belimbing wuluh dengan dosis 700 mg/kgBB) (Rayani et al., 2019). Setiap perlakuan terdiri dari 4 (empat) kali pengulangan, dengan perhitungan menggunakan rumus Federer (Indratama dan Yenita, 2019).

Preparasi dan infeksi mencit menggunakan *S. Typhimurium*

Preparasi bakteri dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bakteri yang masih produktif dan menghasilkan koloni yang murni sehingga model infeksi yang dihasilkan bersifat konsisten (Sari et al., 2025). Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dibuat dengan melarutkan 63,02 g SSA dalam 1000 mL aquadest steril, kemudian dipanaskan hingga larut sempurna dan dituangkan ke dalam cawan petri hingga memadat. Isolat *Salmonella typhimurium* dimasukkan ke dalam medium menggunakan jarum inokulasi, kemudian diinkubasi pada suhu

37°C selama satu hari. Setelah bakteri tumbuh, kultur dicampurkan ke dalam larutan NaCl 0,9% hingga tingkat kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0,5. (Dharmawibawa, 2022).

Perlakuan pada mencit dimulai saat mencit sudah diaklimatisasi, kemudian kelompok di induksi *Streptomycin* sulfat segar 200 mg/ml dilarutkan dalam dalam air steril dan diberikan sebanyak 0,1 ml (20 mg) per mencit dengan berat badan 18-25 g menggunakan jarum gavage yang telah disterilkan dan masukkan jarum gavage dengan lembut ke dalam kerongkongan hingga ke lambung yang bertujuan untuk menghambat resistensi kolonisasi usus yang terkait dengan mikrobiota terhadap *S. Typhimurium*. (Walker et al., 2023). Setelah 24 jam pemberian *streptomycin*, hewan model dipuaskan, kemudian kelompok perlakuan P0 hingga P5 diberikan bakteri yang sudah dalam bentuk suspensi dalam NaCl 0,9% standar MC Farland 0.5 diberikan secara oral dengan volume 0,1 mL dengan menggunakan jarum sonde khusus, sehingga suspensi bakteri dapat masuk langsung ke lambung (Wickham et al., 2007)

Setelah infeksi dilakukan maka dilakukan konfirmasi infeksi yang bertujuan untuk melihat apakah mencit sudah terinfeksi bakteri *S. Typhimurium* dengan memantau pola pengeluaran feses, yang mencerminkan dinamika ekskresi bakteri melalui kotoran. Sampel feses dari setiap kelompok dikoleksi, ditimbang, dan dihomogenkan dalam NaCl fisiologis. Suspensi tersebut kemudian diencerkan secara bertingkat hingga 10^{-5} dan ditanam pada media SSA menggunakan teknik *pour-plate* dengan cara memasukkan 1 mL sampel ke dalam cawan Petri bersih serta menambahkan sekitar 20 mL media. Media diratakan dan diinkubasi selama 24 jam. Keberadaan *S. typhimurium* pada media tersebut menandakan keberhasilan infeksi (A'yunin et al., 2025).

Pembuatan dan pemberian larutan uji

Larutan uji dibuat menggunakan CMC 0,5% yang berfungsi sebagai agen pensuspensi untuk menjaga stabilitas ekstrak yang mengandung flavonoid, tanin, dan fenol. Kelompok kontrol positif diberikan levamisol (0,63 mg/kg berat badan) yang dicampur dalam CMC 0,5%, sedangkan kelompok kontrol negatif hanya diberikan CMC 0,5%. Kelompok

perlakuan diberikan ekstrak etanol buah belimbing wuluh yang disuspensikan dalam CMC 0,5% dengan berbagai dosis, yaitu 420, 560, dan 700 mg/kg berat badan. Seluruh perlakuan diberikan secara oral setelah infeksi bakteri dan dilanjutkan selama 7 hari (Fitriana *et al.*, 2020; Wehantouw, 2014).

Pengamatan parameter

Paramater yang diukur untuk melihat potensi ekstrak sebagai imunomodulator salah satunya adalah NLR. Nilai NLR yaitu nilai dari hasil bagi antara jumlah neutrofil dengan jumlah limfosit dari hasil perhitungan jumlah leukosit (Darwis *et al.*, 2020). Menurut (Wehantouw, 2014), untuk menentukan nilai NLR digunakanlah pada persamaan 1.

$$NLR = \frac{\text{Jumlah Neutrofil (\%)}}{\text{Jumlah Limfosit (\%)}}$$

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi buah belimbing wuluh

Berdasarkan Tabel 1, rendemen yang diperoleh dari ekstrak buah belimbing wuluh adalah 13,89%. Hasil ini menunjukkan tingkat ekstraksi yang dapat diterima. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Rahadyana dkk. (2024), yang menyatakan bahwa rendemen yang baik untuk ekstrak kental adalah yang melebihi 10%. Rendemen ekstraksi yang lebih tinggi berkaitan dengan peningkatan jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 96% Buah Belimbing Wuluh

Ekstrak	Berat simplisia awal (gram)	Berat Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)
Buah belimbing wuluh	500 gram	69,47 gram	13,89 %

Uji fitokimia

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 2, buah belimbing wuluh mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Temuan dari skrining fitokimia buah *Averrhoa bilimbi* ini sejalan dengan hasil penelitian mengenai metabolit sekunder yang

dilaporkan oleh Starlista *et al.*, (2025).

Hasil uji alkaloid sampel menunjukkan hasil positif dengan reagen Dragendorff, yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga, sedangkan hasil uji dengan reagen Mayer menunjukkan hasil negatif, yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh variasi tingkat sensitivitas masing-masing reagen terhadap alkaloid yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*)

Jenis senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	+
	Mayer	-
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	+
Saponin	Akuades	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	+
Triterpenoid	Asam asetat +H ₂ SO ₄	+
Steroid	Asam asetat +H ₂ SO ₄	-

Pereaksi Dragendorff diketahui memiliki sensitivitas yang lebih tinggi sehingga mampu mendeteksi alkaloid dalam konsentrasi rendah, sedangkan pereaksi Mayer cenderung memberikan hasil negatif apabila kadar alkaloid dalam ekstrak relatif sedikit. Selain itu, perbedaan struktur kimia alkaloid, kondisi pH, serta adanya senyawa metabolit sekunder lain seperti flavonoid dan tannin juga dapat memengaruhi pembentukan endapan pada proses identifikasi alkaloid (Wulan & Wattihelu, 2024). Alkaloid merupakan senyawa dasar yang mengandung atom nitrogen, karbon, hidrogen dan oksigen yang memiliki efek biologis dan mempunyai khasiat untuk menjaga kesehatan dan memiliki sifat sebagai antibakteri atau anti inflamasi (Maslahah & Nurhayati, 2024).

Analisis flavonoid dilakukan menggunakan serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) pekat. Kombinasi Mg dan HCl pekat mengubah inti benzopiron dalam struktur flavonoid, yang menyebabkan perubahan warna menjadi merah-kekuningan. Perubahan warna ini terjadi karena logam Mg mereduksi flavonoid dan menghasilkan garam flavilium (Astuti & Susanti, 2024; Yanti & Vera, 2019). Flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang ditemukan pada tanaman. Senyawa ini memiliki

berbagai fungsi biologis, termasuk sifat antioksidan, antiinflamasi, dan imunomodulator. Penelitian Sabini & Susilowati (2025), mencatat bahwa flavonoid dapat memengaruhi aktivasi sel imun dan produksi sitokin, serta membantu menurunkan stres oksidatif. Proses-proses ini dapat berperan dalam mencegah dan menangani kondisi yang terkait dengan masalah sistem kekebalan tubuh.

Metode pembentukan busa (*froth method*) digunakan untuk menguji saponin; metode ini melibatkan penambahan ekstrak ke dalam tabung reaksi, pencampuran dengan akuades, dan pengocokan selama sekitar 30 detik hingga 15 menit. Keberadaan saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang mencapai ketinggian 1 cm (Yanti & Vera, 2019). Saponin adalah senyawa kimia alami sering kali berasal dari tanaman yang terdiri dari glikosida yang berikatan dengan steroid atau triterpena. Senyawa ini menunjukkan berbagai efek farmakologis seperti aktivitas imunomodulator, antikarsinogenik, antiinflamasi, antivirus, antimikroba, antiprotzoa, hipoglikemik, hipokolesterolemik, dan antioksidan (Saraswati & Setyaningsih, 2018).

Tanin berperan sebagai imunostimulan dengan meningkatkan efektivitas sistem kekebalan tubuh, yang sangat penting untuk pertahanan tubuh terhadap patogen dan penyakit. Tanin dapat meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag dalam melawan mikroba (Pratama et al., 2022). Keberadaan gugus fenolik diperiksa menggunakan reagen FeCl₃, yang menyebabkan perubahan warna menjadi hitam ketika tanin yang tergolong polifenol membentuk kompleks dengan FeCl₃ (Mulyani et al., 2025).

Uji Liebermann-Burchard digunakan untuk mengidentifikasi steroid dan triterpenoid. Warna merah atau ungu mengindikasikan adanya triterpenoid, sedangkan warna hijau menunjukkan adanya steroid. Perbedaan hasil antara steroid dan triterpenoid mencerminkan variasi dalam struktur kimia dan kandungan senyawa ekstrak, serta keberadaan gugus fungsi teroksidasi pada cincin dan terjadinya oksidasi cincin karbon (Shabira et al., 2025). Hasil skrining menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung senyawa triterpenoid. Triterpenoid merupakan metabolit sekunder yang berasal dari terpenoid, dengan kerangka karbon yang terbentuk dari enam unit isoprena (2-metilbuta-

1,3-diena) yang berasal dari skualena, suatu hidrokarbon C₃₀ rantai lurus. Triterpenoid memiliki sifat antiinflamasi, antivirus, antikanker, dan antimikroba. Senyawa-senyawa ini dapat hadir dalam konfigurasi siklik maupun asiklik serta terdiri atas gugus aldehida, alkohol, atau asam karboksilat (Rahmawati et al., 2023).

Infeksi Bakteri *Salmonella Typhimurium*

Bakteri *salmonella typhimurium* menyebabkan penyakit pathogen enterik primer atau demam tifoid. Bakteri yang dijadikan suspensi dalam NaCl 0,9% standart Mc. Farland 0.5 dan diberikan kepada hewan uji dengan metode oral dan menggunakan sonde oral sebanyak 0.1 ml. Bakteri akan melewati saluran pencernaan melakukan kolonisasi pada usus. Bakteri kemudian berinteraksi dengan mukosa usus dan mampu menembus lapisan epitel sehingga memicu respon imun tubuh. Keberhasilan kolonisasi bakteri dalam saluran cerna dapat menyebabkan gangguan pada sistem gastrointestinal serta memicu proses inflamasi dan diukur melalui pola pengeluaran fases.

Tabel 3. Hasil konfirmasi infeksi

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah koloni bakteri	CFU
Positif (P1)	4	298.25	$2,9825 \times 10^7$
Negatif (P2)	4	198	$1,98 \times 10^7$
Dosis 1 (P3)	4	311.75	$3,1175 \times 10^7$
Dosis 2 (P4)	4	103.5	$1,035 \times 10^7$
Dosis 3 (P5)	4	71.75	$7,175 \times 10^6$

Berdasarkan hasil pemeriksaan fases yang telah dilakukan, mencit tersebut terbukti terinfeksi yang ditandai dengan tumbuhnya bakteri dari fases dalam media selektif. Bakteri *Salmonella Typhimurium* mampu melakukan kolonisasi pada saluran pencernaan mencit dan berhasil menyebabkan infeksi setelah pemberian secara oral. Adanya ekskresi bakteri melalui feses mengindikasikan bahwa bakteri tetap bertahan dan berkembang di dalam usus sehingga dapat dikeluarkan kembali bersama kotoran hewan uji. Tingkat ekskresi bakteri yang berada pada kategori sedang menunjukkan bahwa proses infeksi berlangsung cukup baik.

Neutrofil to Lymphocyte Ratio (NLR)

Neutrofil to Lymphocyte Ratio (NLR) yang

diperoleh dengan membagi jumlah neutrofil dengan jumlah limfosit—mengindikasikan adanya infeksi, peradangan, atau stres fisiologis (Intisari, 2021). Baik neutrofil maupun limfosit berperan dalam respons imunologis terhadap patogen; jumlah neutrofil meningkat sebagai lini pertahanan awal melawan patogen, namun jumlah limfosit sering kali menurun akibat respons stres peradangan, sehingga meningkatkan nilai NLR (Ilham et al., 2024). Infeksi *Salmonella typhimurium* meningkatkan kadar Interleukin-8 (IL-8), yang menyebabkan

neutrofil bermigrasi antar-kompartemen. Bakteri ini juga mengaktifkan limfosit untuk memproduksi IL-17, yang selanjutnya menstimulasi produksi *Granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF) dan *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) di sumsum tulang, sehingga pada akhirnya meningkatkan jumlah neutrofil dalam darah dan mengubah proporsi leukosit lainnya, yang kemudian menaikkan nilai NLR (Kartikadewi & Jaludamascena, 2019).

Tabel 4. Hasil uji Annova dan DMRT NLR

Kelompok	n	Mean ± SD	F	p-Value	Notasi
Dosis 1	4	1.2708 ± 0.2083	9.210	0.001	b
Negatif	4	1.0833 ± 0.2634			b
Dosis2	4	0.7293 ± 0.2083			a
Positif	4	0.7085 ± 0.2097			a
Normal	4	0.6460 ± 0.1049			a
Dosis3	4	0.4583 ± 1.1599			a

Hasil analisis dan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) mengindikasikan bahwa adanya perbedaan nyata pada beberapa kelompok perlakuan, yang menandakan bahwa pemberian perlakuan memberikan pengaruh berbeda terhadap NLR. Kelompok dosis 1 dan kelompok negatif berada pada notasi yang sama yaitu “b”, yang mengindikasikan kedua kelompok tersebut tidak berbeda nyata. Kelompok dosis 2, dosis 3, kontrol positif, dan kontrol normal berada pada notasi “a”, yang mengindikasikan bahwa kelompok tersebut juga tidak berbeda nyata satu sama lain. Perbedaan notasi antara kelompok “a” dan “b” menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan. Kelompok dosis 3 memiliki nilai rerata NLR paling rendah yaitu $0,4583 \pm 1.1599$, sedangkan kelompok dosis 1 memiliki nilai rerata tertinggi yaitu $1,2708 \pm 0,2083$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pada dosis 2 dan dosis 3 mampu memperbaiki nilai NLR dibanding kelompok negatif.

Nilai NLR yang rendah menandakan keseimbangan antara neutrofil dan limfosit menjadi lebih baik sehingga inflamasi lebih terkendali. Sebaliknya, tingginya nilai NLR pada kelompok negatif dan dosis 1 menunjukkan bahwa respon inflamasi masih cukup tinggi akibat infeksi *Salmonella Typhimurium*. Hasil

ini sejalan dengan penelitian (Kartikadewi & Jaludamascena, 2019) yang menyoroti bagaimana aktivasi dan proliferasi limfosit dimodulasi melalui penghambatan sinyal sitokin pro-inflamasi IL-17. Kadar IL-17 yang lebih rendah menyebabkan penurunan kadar G-CSF dan GM-CSF di sumsum tulang, yang pada gilirannya menurunkan jumlah neutrofil.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi*) mampu digunakan sebagai imunomodulator yang memodulasi *Limfosit to neutrofil* (NLR) dengan dosis yang paling baik yaitu dosis 700mg/kg BB.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi atas izin penggunaan Laboratorium agroindustri dan bioteknologi

Referensi

A'yunin, Z. N., Pestariati, Endarim\ni, L. H., & Krihariyani, D. (2025). Pour Plate dan Spread Plate Sebagai Metode yang Akurat

- dalam Pemeriksaan Jumlah Bakteri dalam Urin pada Suhu Ruang dan Suhu Kulkas. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 16, 492–495. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.33846/sf16227>
- Adriana, umi helpa, Nofita, N., & Marcelia, S. (2024). Uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun kemangi. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 11(1), 185–196. <https://doi.org/https://doi.org/10.33024/jik.k.v11i1.13034>
- Arib, M. F., Rahayu, M. S., Sidorj, R. A., & Afgani, M. W. (2024). Experimental Research Dalam Penelitian Pendidikan. *Journal Of Social Science Research Volume*, 4(1), 5497–5511. <https://doi.org/https://doi.org/10.31004/innovative.v4i1.8468>
- Astuti, W., & Susanti, D. (2024). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Dilusi. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Malahayati. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 11(5), 2549–4864. <http://ejournalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan>
- Darwis, I., Ngurah, G., Wisnu, P. P., Mentari, S., Ilmu, B., Dalam, P., Kedokteran, F., Lampung, U., Abdul, R. H., Patologi, K. S. M., Rsud, K., Moeloek, H. A., Lampung, P., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2020). Pengaruh Nilai Neutrophil Lymphocyte Ratio (NLR) sebagai Prediktor Mortalitas pada Pasien Ulkus Diabetikum Influencing of Neutrophil Lymphocyte Ratio as predictor of mortality in Patients with Diabetic. *Jk Unila* 4(1), 128–134. <http://repository.lppm.unila.ac.id/30519/1/2875-3574-1-PB.pdf>
- Doddy Dharmawibawa, I. (2022). Uji In Vitro dan In Vivo Ekstrak Hibiscus Sabdariffa Sebagai Antibakteri *Salmonella Typhimurium*. *Jurnal Ilmiah Biologi "Bioscientist"*, 1(1), 2338–5006. <https://ejournal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist/article/view/3548/2438>
- Fitriana, M., Halwany, W., Anwar, K., Triyasmono, L., & Rahmanto, B. (2020). *Karakteristik Fisika Sediaan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Gaharu (Aquilaria microcarpa Baill .) dengan Variasi Carboxymethyl Cellulose Sodium (CMC-Na)*. 07(01), 125–131. <https://doi.org/https://doi.org/10.20527/jps.v7i1.8087>
- Fitriani, M., & Latifudin, D. (2025). *Pengaruh Lama Maserasi Pollard (Triticum aestivum L .) dengan Pelarut Etanol terhadap Rendemen , Profil Fitokimia , dan pH The Effect of Pollard Time (Triticum aestivum L .) Maceration with Ethanol Solvent on Yield , Phytochemical Profile , and pH*. 8(2), 82–87. <https://doi.org/https://doi.org/10.32530/jlah.v8i2.103>
- Galán-Relaño, Á., Valero Díaz, A., Huerta Lorenzo, B., Gómez-Gascón, L., Mena Rodríguez, M. ^a. Á., Carrasco Jiménez, E., Pérez Rodríguez, F., & Astorga Márquez, R. J. (2023). Salmonella and Salmonellosis: An Update on Public Health Implications and Control Strategies. *Animals*, 13(23). <https://doi.org/10.3390/ani13233666>
- Gede, P. W. R. (2021). Review artikel : aktivitas imunomodulator ekstrak herba meniran (*phyllanthus niruri* l .). *Jurnal farmasi malahayati*, 4(1), 44–52. <https://doi.org/https://doi.org/10.33024/jfm.v4i1.4264>
- Hapfelmeier, S., & Hardt, W.-D. (2005). A mouse model for *S. typhimurium*-induced enterocolitis. *Trends in Microbiology*, 13(10), 497–503. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.08.008>
- Hazimah, khoirunnisa wal, priastomo, M., & Rusli, R. (2018). Proceeding of the 7. *Proceeding of the 7th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 57–62.
- Ilham, A. R., Lipinwati, L., Syauqy, A., & Halim, S. (2024). Uji Beda Leukosit dan NLR (Neutrophil Lymphocyte-Ratio) terhadap Luaran Pasien Sepsis Rawat ICU (Intensive Care Unit) RSUD Raden Mattaher Jambi 2019 - Oktober 2022. *JOMS*, 4(1), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.22437/joms.v4i1.31935>
- Intisari. (2021). *Rasio neutrofil-limfosit sebagai*

- faktor prediktor remisi pada lupus eritematosus sistemik anak. <https://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/206464>
- Ismiyati, I., & Sari, F. (2020). Identifikasi kenaikan titik didih pada proses evaporasi, terhadap konsentrasi larutan sari jahe. *Konversi*, 9(2), 33–39. <https://doi.org/https://doi.org/10.24853/konversi.9.2.7>
- Kartikadewi, A., & Jaludamascena, A. (2019). Pengaruh Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L), Merr) terhadap Neutrophil Lymphocyte Ratio (NLR) pada Mencit Balb / C yang Diinfeksi *Salmonella Typhimurium*. *Jurnal Medica Arteriana*, 1(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.26714/meldart.1.1.2019.22-28>
- Kasim, V. N. A. (2020). Peran imunitas pada infeksi *Salmonella Typhi*. In *C.V Athra Samudra*.
- Malaka, M. H., Raodah, S., Jannah, N., & Aziz, M. I. (2023). Peningkatan Pemahaman Dan Kewaspadaan Masyarakat Terhadap Kasus Resistensi Antibiotik Di Sma Negeri 2 Kendari. *Jurnal Pengabdian Farmasi*, 2(1), 28–33. <https://doi.org/https://doi.org/10.33772/mosiraha.v1i2.24>
- Maslahah, N., & Nurhayati, H. (2024). Manfaat Kesehatan Beberapa Senyawa Fitokimia. *Warta BSIP Perkebunan*, 2(3), 22–25. <https://epublikasi.pertanian.go.id/berkala/wartabun/article/view/4003/3897>
- Muliyani, P., Soemarie, Y. budianti, & Fauzi, M. (2025). Studi fitokimia: identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun mengkrendan (*Polygonum barbatum* L.) di KALIMANTAN. *Farmasi IKIFA*, 4(1), 87–94. [https://scholar.google.com/scholar?q=+intitle:%27Studi Fitokimia: Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Mengkrendan \(Polygonum barbatum L.\) di KALIMANTAN%27](https://scholar.google.com/scholar?q=+intitle:%27Studi Fitokimia: Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Mengkrendan (Polygonum barbatum L.) di KALIMANTAN%27)
- Nasrun, I. N., Rauf, S., Idrus, H. H., Mappaware, N. A., Kedokteran, F., Muslim, U., Kedokteran, F., & Indonesia, U. M. (2023). *Fakumi medical journal*. 3(12), 917–925. <https://doi.org/https://doi.org/10.33096/fmj.v3i12>
- Pratama, N. H., Fadhillah, A., Farmasi, F., & Surakarta, U. M. (2022). Uji aktivitas imunomodulator ekstrak metanol buah kecombrang (*etlingera elatior* (jack) r . M . Smith) terhadap respon imun non-spesifik pada mencit dengan metode carbon clearance. *Journal of Pharmacy*. 1(4), 495–504. <https://doi.org/https://doi.org/10.23917/ujp.v1i4.139>
- Rahmawati, A. S., & Erina, R. (2020). Rancangan acak lengkap (ral) dengan uji anova dua jalur. *OPTIKA: Jurnal Pendidikan Fisika*, 4(1), 54–62. <https://doi.org/https://doi.org/10.37478/optika.v4i1.333>
- Rahmawati, K. P., Aini, D. M., & Harniati, W. (2023). Ekstrak Jeruk Nipis Sebagai Obat Terapi Penyembuhan Penyakit Gastritis dengan metode GC-MS. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 4(1), 152–158. <https://doi.org/10.47065/jharma.v4i1.3253>
- Rayani, T., Wijayanti, A., & Safitri, R. (2019). Efektivitas pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn) terhadap penurunan leukosit pada penyebab mencit infeksi nifas. *Jurnal siklus*, 08, 87–92. https://repository.itsk-soepraoen.ac.id/878/14/BELIMBING WULUH_0720038804.pdf
- Sabini, J., & Susilowati, R. P. (2025). Peran Flavonoid sebagai Agen Imunomodulator: Potensi Terapeutik dan Mekanisme Aksi. *Jurnal MedScientiae*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.36452/jmedscientiae.v4i1.3710>
- Saraswati, R. A., & Setyaningsih, E. (2018). Potential of starfruit plants (*Averrhoa bilimbi*) against several diseases of the cardiovascular system. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek III*, 155–160. <https://proceedings.ums.ac.id/snpbs/article/view/560/552>
- Sari, yeti eka sispita, Fitrotin, A., Tumbol, michael vallery loueis, Endah, P., Rohayati, Astusi, rima agnes ridya, Fera, S., situmeang, suryani, M. F., Noer, mazidah inayah, Juuniawan, mulya fitrah, Darmo, K., Desi, yulia ratna, Sahroni, M., Patricia, V., Arimurti, anindita resti retno, & Dewi,

- N. putu sinta puspa. (2025). *Teknologi laboratorium medis*.
- Shabira, A. R., Fadiah, L. H., & Umami, M. (2025). *Analisis Senyawa Fitokimia dari Ekstrak Maggot Black Soldier Fly (Hermetia illucens)*. <https://doi.org/https://doi.org/10.62951/zooologi.v3i2.202>
- Starlista, V., Lamin, S., & Yunisya, A. (2025). *Jurnal Inovasi Kesehatan Adaptif. Jurnal Inovasi Kesehatan Adaptif*, 7(6), 96–99. <https://oaj.jurnalhst.com/index.php/jika/article/view/12188>
- Walker, G. T., Gerner, R. R., Nuccio, S.-P., & Raffatellu, M. (2023). Murine Models of Salmonella Infection. *Current Protocols*, 3(7), e824. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cpz1.824>
- Wehantouw, F. (2014). aktivitas diuretik dan skrining fitokimia ekstrak etanol biji pepaya (carica papaya l .) pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal ilmiah farmasi* 3(3), 188–195. <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/pharmacon/article/view/5365>
- Wickham, M. E., Brown, N. F., Provias, J., Finlay, B. B., Coombes, B. K., Laboratorium, A., Smith, M., Columbia, U. B., Neuropatologi, D., Sciences, H. H., Wickham, E. M. E., Brown, N. F., Provias, J., Brett, B., & Coombes, B. K. (2007). *Penyakit Menular BMC*. 6, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-65>
- World Health Organization. (2023). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/typhoid>
- Wulan, I. C., & Wattiheluw, M. H. (2024). Skrining Fitokimia dan Analisis Aktivitas Antioksidan Infused Water Buah Belimbing Wuluh Menggunakan Metode Uji DPPH. *Nutriture Journal*, 3(3), 127–133. <https://ojs.poltekkes-malang.ac.id/index.php/Nutriture/article/view/5077>
- Yanti, S., & Vera, Y. (2019). Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 4(2), 41–46. <https://jurnal.unar.ac.id/index.php/health/article/view/177/128>