

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM
(*Nigella sativa*) TERHADAP JUMLAH TROMBOSIT TIKUS
WISTAR YANG DIBERI METOTREKSAT**



ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk :

Memenuhi Tugas dan Melengkapi Persyaratan dalam Menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh:

ARIFIYAH

NIM : G2A003028

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2007

HALAMAN PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
TERHADAP JUMLAH TROMBOSIT TIKUS WISTAR YANG DIBERI
METOTREKSAT**

Disusun oleh:

Arifiyah

G2A003028

Telah diseminarkan di hadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 8 Agustus 2007 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan

Tim Penguji
Ketua Penguji

dr. Ari Adrianto, Sp.B-KBD

NIP : 132 304 744

Penguji

Pembimbing

dr. Nyoman Suci W., M.Kes, Sp.PK

NIP : 132 163 891

dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, PhD

NIP : 132 149 104

THE EFFECT OF BLACK SEEDS (*Nigella sativa*) ON THE PLATELETS COUNT OF WISTAR RATS GIVEN METHOTREXATE

Arifiyah¹⁾, Noor Wijayahadi²⁾

ABSTRACT

Background: Chemotherapy methotrexate often causes bone marrow depression as side effect, which is reflected as thrombocytopenia. *Nigella sativa* extract was proved that it could increase bone marrow cells proliferation. The objective of this study is to determine the effect of *Nigella sativa* extract on platelets count of Wistar rats given methotrexate.

Methods: This study was an experimental study with Randomized Pre Test and Post Test Control Group Design. Samples consist of 28 rats, divided in control group (K), treatment group 1 (P1), treatment group 2 (P2), treatment group 3 (P3). All rats were adapted for 7 days, then on the 7th day we took the rat peripheral blood from retroorbital vein and calculate platelets count by Barbara Brown methods. *Nigella sativa* extracts were given on the 8th until 21st day, the doses are 2x0,008ml each day (P1), 2x0,08ml each day (P2), and 2x0,8ml each day (P3). All groups were given 0,54mg methotrexate each day on the 16th until 20th day. On the 22nd day we took the rat peripheral blood from retroorbital vein and calculate platelets count by Barbara Brown methods.

Results: Platelets count of P2 group after treatment was decreased but it was not significant compared with the reduction of platelets count on K and P1. There was significantly different between P1 and P2 ($p=0,028$).

Conclusion: *Nigella sativa* extract 2x0,08ml each day prevent the reduction of platelets count on Wistar rats given 0,54mg methothexate.

Keywords: Black seeds (*Nigella sativa*), methotrexate, platelets

1) Student of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

2) Pharmacology's Department of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
TERHADAP JUMLAH TROMBOSIT TIKUS WISTAR YANG DIBERI
METOTREKSAT**

Arifiyah¹⁾, Noor Wijayahadi²⁾

ABSTRAK

Latar Belakang: Kemoterapi metotreksat memiliki efek samping depresi sumsum tulang yang dapat berakibat trombositopeni. Ekstrak biji *Nigella sativa* telah diteliti dapat meningkatkan proliferasi sel sumsum tulang. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak biji *Nigella sativa* terhadap jumlah trombosit tikus Wistar yang diberi metotreksat.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian “*Randomized Pre Test and Post Test Control Group Design*”. Sampel terdiri dari 28 tikus Wistar yang dibagi menjadi kelompok Kontrol (K), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), dan Perlakuan 3 (P3). Semua tikus diadaptasi selama 7 hari, pada hari ke-7 dilakukan pengambilan sampel darah vena retroorbita dan estimasi jumlah trombosit metode *Barbara Brown*. Ekstrak *N.sativa* diberikan pada hari ke-8 sampai ke-21 dengan dosis 2x0,008ml per hari (P1), 2x0,08ml per hari (P2), dan 2x0,8ml per hari (P3). Semua kelompok diberi metotreksat dosis 0,54mg per hari pada hari ke-16 sampai ke-20. Pada hari ke-22 dilakukan pengambilan sampel darah vena retroorbita dan estimasi jumlah trombosit metode *Barbara Brown*.

Hasil: Jumlah trombosit pada kelompok P2 setelah perlakuan mengalami penurunan namun tidak terlalu berarti dibandingkan dengan penurunan jumlah trombosit pada kelompok K dan P1. Antara kelompok P1 dan P2 terdapat perbedaan bermakna ($p=0,028$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* 2 x 0,08 ml per hari mampu mencegah penurunan jumlah trombosit tikus Wistar yang diberi 0,54 mg metotreksat.

Kata Kunci: Jintan Hitam (*Nigella sativa*), metotreksat, trombosit

1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

2) Staf Pengajar Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
PENDAHULUAN

Insiden kanker pada masyarakat di dunia, termasuk Indonesia saat ini semakin meningkat. Kesadaran masyarakat yang masih rendah terhadap penyakit mematikan ini membuat angka kejadiannya terus bertambah. WHO mencatat sekitar 180 dari 100.000 penduduk menderita kanker.¹

Terapi kanker saat ini antara lain dengan bedah, radioterapi, kemoterapi, dan imunoterapi.^{1,2} Salah satu kemoterapi pilihan adalah metotreksat, obat antikanker golongan antimetabolit. Metotreksat merupakan antagonis asam folat, yang kerjanya menghambat *dihydrofolat reduktase*.^{3,4} Meskipun obat sitostatik lebih toksik terhadap sel tumor, ia juga dapat merusak sel-sel normal. Sel normal yang paling sensitif terhadap obat ini adalah sel dengan daya proliferasi tinggi, antara lain sel sumsum tulang, sel saluran cerna, dan sel folikel rambut.⁵ Supresi hemopoiesis terlihat sebagai lekopeni, trombositopeni, atau anemia.⁴

Trombositopenia didefinisikan sebagai jumlah trombosit dibawah 100.000/mm³. Jumlah trombosit normal dalam darah tepi adalah 150.000-450.000/mm³.⁶ Trombosit merupakan komponen darah yang diproduksi di sumsum tulang dengan fragmentasi sitoplasma megakariosit. Fungsi trombosit adalah membentuk sumbatan mekanis selama respon hemostatik normal terhadap luka vaskular.⁷ Trombositopenia antara lain disebabkan oleh pembentukan yang menurun, penghancuran yang berlebihan dan keadaan-keadaan defisiensi. Agen-agen kemoterapik, khususnya yang bersifat toksik terhadap sumsum tulang juga akan menekan pembentukan trombosit.^{6,8}

Nigella sativa, yang lebih dikenal sebagai Jintan hitam atau *Habbatus sauda* adalah tanaman obat berbentuk biji hitam yang telah dikenal ribuan tahun yang lalu dan digunakan secara luas oleh masyarakat India, Pakistan, Mesir, dan negara-negara timur tengah lainnya untuk mengobati berbagai macam penyakit.^{9,10,11} Penelitian terbaru oleh *Cancer Research Laboratory of Hilton Head Island, South Carolina, Amerika Serikat*, telah membuktikan bahwa ekstrak biji *Nigella sativa* dapat meningkatkan proliferasi sel-sel sumsum tulang sebesar 2,5 kali.¹² Penelitian lain juga menyebutkan bahwa biji *Nigella sativa* dapat meningkatkan fungsi kekebalan tubuh melalui mekanisme yang sama. Penelitian yang dilakukan secara *in vitro* ini membuktikan bahwa pada konsentrasi tertentu ekstrak biji *Nigella sativa* sangat efektif dalam menstimulasi proliferasi sel-sel hemopoetik di sumsum tulang. Mekanisme stimulasi tersebut menunjukkan peningkatan yang cukup bermakna pada jumlah CFU (*Colony Forming cell Unit*), dimana peningkatan tersebut melibatkan komponen-komponen hemopoetik.¹³ Dalam hubungannya dengan trombopoiesis, komponen yang berperan antara lain CFU Megakariosit, dan MGF (*Megakariosit Growth Factor*) atau trombopoetin.⁷

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* terhadap jumlah trombosit tikus Wistar yang diberi metotreksat.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi untuk penelitian selanjutnya dan menjadi bahan pertimbangan untuk diterapkan pada pasien-pasien yang mendapat terapi metotreksat untuk mengurangi efek samping obat kemoterapi tersebut.

METODE PENELITIAN

Ruang lingkup keilmuan pada penelitian ini adalah Ilmu Farmakologi dan Patologi Klinik. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi FK UNDIP Semarang, dimulai pada bulan Februari 2007 hingga Maret 2007.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian “*Randomized Pre Test and Post Test Control Group Design*” yang menggunakan hewan coba tikus Wistar sebagai objek penelitian.¹⁴

Penentuan besar sampel pada penelitian diperoleh berdasar rumus Federer ($n-1)(t-1) \geq 15$, dimana n adalah jumlah sampel tiap kelompok dan t adalah jumlah kelompok. Dalam penelitian ini tikus dibagi menjadi 4 kelompok, sehingga didapatkan jumlah sampel tiap kelompok sebanyak 6 ekor. Untuk mengantisipasi terjadinya *drop out* maka jumlah sampel diperbesar menjadi 7 ekor tiap kelompok, sehingga diperoleh jumlah sampel keseluruhan 28 ekor.

Sampel penelitian diambil secara acak (random) dari populasi dengan kriteria inklusi yaitu tikus Wistar jantan, umur 12-16 minggu, berat badan 180-250 gram, dan tidak cacat secara anatomi. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah tikus yang tampak sakit sebelum perlakuan dan terdapat kelainan anatomi. Kriteria *drop out* adalah tikus yang mati selama adaptasi dan atau perlakuan.

Variabel dalam penelitian ini meliputi ekstrak biji *Nigella sativa* sebagai variabel bebas, metotreksat sebagai variabel perantara dan jumlah trombosit sebagai variabel tergantung.

Bahan yang digunakan meliputi tikus Wistar, minyak ekstrak *Nigella sativa*, metotreksat, pakan tikus standar, dan sampel darah tikus. Alat yang digunakan

meliputi kandang tikus, sonde lambung, alat untuk mengambil sampel darah, alat untuk pemeriksaan hitung jumlah trombosit, dan alat untuk membuat ekstrak minyak biji Jintan hitam.

Tikus Wistar yang berjumlah 28 ekor dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 7 ekor yang ditentukan secara acak. Setiap kelompok dikandangkan di Laboratorium Parasitologi FK Undip. Selama penelitian, tikus mendapat pakan dan minum standar yang sama setiap hari. Untuk adaptasi, selama 7 hari seluruh tikus hanya diberi pakan dan minum standar. Pada hari ke-7, dilakukan pengambilan darah tepi pleksus retroorbitalis pada seluruh tikus Wistar, kemudian dilakukan estimasi jumlah trombosit dengan metode *Barbara Brown*.^{8,15}

Setelah hari ke-7, pada kelompok Kontrol (K), setiap tikus hanya mendapat pakan standar. Pada hari ke-8 sampai hari ke-21, kelompok perlakuan selain diberi makan standar, juga diberi ekstrak biji *Nigella sativa* per oral, dengan dosis 2 x 0,008 ml per hari untuk kelompok perlakuan (P1), 2 x 0,08 ml per hari untuk kelompok perlakuan (P2), dan 2 x 0,8 ml per hari untuk kelompok perlakuan 3 (P3). Pada hari ke-16 sampai hari ke-20, semua kelompok kontrol dan perlakuan diberi metotreksat per oral dengan dosis 0,54 mg per hari. Pada hari ke-22 dilakukan pengambilan sampel darah tepi dari pleksus retroorbitalis tikus. Kemudian dilakukan pemeriksaan estimasi jumlah trombosit dengan metode *Barbara Brown*.^{8,15}

Nigella sativa yang digunakan diperoleh dari laboratorium Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Ketentuan penggunaan ekstrak *Nigella sativa* untuk pemeliharaan kesehatan dan pengobatan terhadap penyakit tubuh manusia adalah 2,5 - 5 ml untuk sediaan cair, 2-3x per hari dapat diberikan sebelum maupun

sesudah makan.⁹ Dosis manusia dengan berat badan 70 kg tersebut, dikonversi terhadap tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018. Sehingga dosis untuk tikus adalah 0,045 - 0,09 ml 2-3x per hari. Pada penelitian ini, dosis yang akan diberikan kepada tikus adalah 2 x 0,08 ml per hari, dan dibuat dosis bertingkat dengan alur logartmik, yaitu P1 : 2 x 0,008 ml per hari, P2 : 2 x 0,08 ml per hari, dan P3 : 2 x 0,8 ml per hari.

Metotreksat yang digunakan diperoleh dari apotek Kimia Farma. Tiap tablet mengandung 2,5 mg metotreksat. Dosis toksik pada manusia sebesar 25 - 30 mg per hari.¹⁶ Sedangkan konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg, pada tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018. Sehingga dosis untuk tikus adalah 0,54 mg 1 x per hari.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapatkan dari jumlah trombosit kelompok tikus wistar sebelum perlakuan, jumlah trombosit tikus wistar yang hanya diberi metotreksat, serta jumlah trombosit tikus wistar yang diberi metotreksat dan *Nigella sativa* dosis bertingkat.

Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Semua pengolahan data menggunakan program *SPSS 15.0 for Windows*. Sebaran data diuji dengan metode *Saphiro Wilk*. Karena syarat normalitas dan homogenitas terpenuhi, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *Anova*. Apabila terdapat perbedaan bermakna dilanjutkan dengan analisis *Post-hoc* memakai uji *Bonferonni* untuk melihat kelompok mana yang memiliki perbedaan. Perbedaan antara kelompok sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan diuji dengan *Paired Samples T-test*. Perbedaan dinyatakan bermakna bila didapatkan $p < 0,05$.¹⁷

HASIL

Tabel di bawah ini menunjukkan rerata trombosit sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2). Jumlah tikus kelompok K setelah perlakuan adalah 5 ekor, karena 2 tikus yang lain mati (*drop out*). Kelompok P3 tidak dimasukkan dalam analisa data karena jumlah sampel tidak memenuhi syarat. Jumlah tikus kelompok P3 setelah perlakuan adalah 1, sedangkan 6 yang lain mati (*drop out*).

Tabel 1. Estimasi jumlah trombosit mm^3 darah tikus Wistar sebelum perlakuan

Kelompok	Jumlah tikus	Rerata	SD	Minimal	Maksimal
K	5	230666,80	34189,225	193333	266667
P1	7	227619,00	32756,843	180000	273333
P2	7	225714,29	38186,525	173333	286667

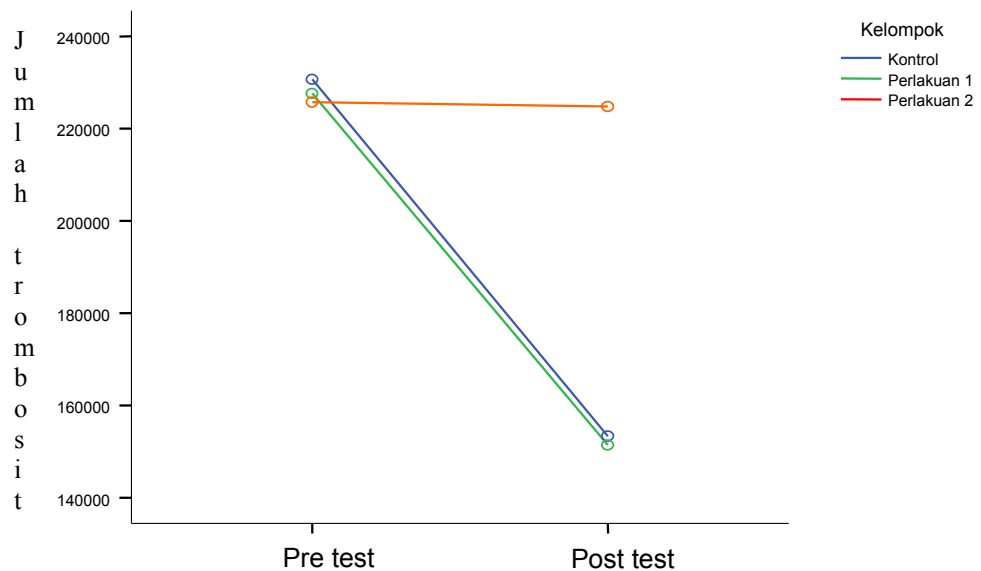
Uji distribusi data dilakukan dengan uji *Saphiro-Wilk*, diperoleh hasil bahwa data berdistribusi normal. Uji homogenitas varian dengan *Levene test* didapatkan bahwa data homogen ($p=0,915$). Karena distribusi data normal dan data homogen, maka dilakukan uji *Anova*. Uji *Anova* data pre-test menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna jumlah trombosit antar kelompok sebelum diberi perlakuan ($p=0,972$).

Tabel 2. Estimasi jumlah trombosit per mm^3 darah tikus Wistar setelah perlakuan

Kelompok	Jumlah tikus	Rerata	SD	Minimal	Maksimal
K	5	153333,40	55176,555	106667	246667
P1	7	151428,52	34793,373	120000	220000
P2	7	224762,00	50142,495	146667	313333

Uji distribusi data dilakukan dengan uji *Saphiro-Wilk*, diperoleh hasil bahwa data berdistribusi normal. Uji homogenitas varian dengan *Levene test* didapatkan bahwa data homogen ($p=0,820$). Karena distribusi data adalah normal dan data homogen, maka dilakukan uji *Anova*.

Uji *Anova* pada data post-test menunjukkan terdapat perbedaan bermakna jumlah trombosit antar kelompok setelah diberi perlakuan ($p=0,016$). Data post-test ini kemudian diuji dengan *Post Hoc Test* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna. Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 ($p=0,028$). Antara kelompok kontrol dan perlakuan 1 tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=1,00$), begitu juga antara kontrol dan perlakuan 2 ($p=0,055$).



Grafik 1. Rerata Jumlah Trombosit Pre test dan Post test

Data pre-test dan post-test ini kemudian diuji dengan *Paired Samples T-Test* dan didapatkan bahwa pada kelompok kontrol pre-test dan post-test tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,081$). Pada kelompok perlakuan 1 pre-test dan post-test didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,002$), sedangkan pada kelompok perlakuan 2 pre-test dan post-test tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,962$).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah trombosit sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan adanya perbedaan. Setelah tikus diberi metotreksat, jumlah trombositnya menurun. Hal ini sesuai dengan efek samping metotreksat yang mendepresi sumsum tulang sehingga dapat menyebabkan penurunan produksi trombosit. Metotreksat bekerja menghambat *dihidrofolat reduktase* sehingga mengganggu pembentukan DNA, RNA, dan protein yang pada akhirnya akan mengganggu pembentukan sel, termasuk sel hematopoetik. Penghambatan terbentuknya sel hematopoetik ini berakibat terhambatnya pembentukan megakariosit di sumsum tulang sehingga jumlah trombosit menurun.^{3,4}

Pada kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan ekstrak *Nigella sativa* dengan dosis 2 x 0,08 ml per hari, sebelum dan selama diberi metotreksat. Hal ini menyebabkan penurunan jumlah trombosit pada P2 tidak terlalu berarti dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) yang tidak diberi ekstrak *Nigella sativa* dan kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi ekstrak *Nigella sativa* namun dengan dosis yang amat kecil, yaitu 2 x 0,008 ml per hari. Hal ini sesuai dengan penelitian *Cancer Research Laboratory of Hilton Head Island, South Carolina, Amerika Serikat* yang telah membuktikan bahwa

ekstrak biji *Nigella sativa* dapat meningkatkan proliferasi sel-sel sumsum tulang sebesar 2,5 kali.¹² Ekstrak *Nigella sativa* efektif dalam menstimulasi proliferasi sel-sel hemopoetik di sumsum tulang. Mekanisme stimulasi tersebut menunjukkan peningkatan jumlah CFU (*Colony Forming Unit*). Komponen yang berperan dalam trombopoiesis antara lain CFU Megakariosit dan MGF (*Megakariosit Growth Factor*) atau trombopoetin.^{7,13}

Uji *Post Hoc* menunjukkan bahwa antara kelompok P1 dan P2 setelah perlakuan terdapat perbedaan bermakna. Hal ini dapat menggambarkan adanya hubungan dosis dan efek dari *Nigella sativa*. Pada P1, pemberian ekstrak *Nigella sativa* dosis 2 x 0,008 ml per hari tidak mampu mencegah penurunan jumlah trombosit tikus Wistar yang sumsum tulangnya terdepresi metotreksat. Hal ini sesuai dengan uji *Paired Samples T-Test* yang menunjukkan adanya penurunan jumlah trombosit yang bermakna antara kelompok P1 sebelum perlakuan dan P1 sesudah perlakuan. Sedangkan pada P2, ekstrak *Nigella sativa* dosis 2 x 0,08 ml per hari mampu mencegah penurunan jumlah trombosit tikus Wistar yang diberi metotreksat. Hal ini sesuai dengan uji *Paired Samples T-Test* yang menunjukkan penurunan jumlah trombosit yang tidak bermakna antara kelompok P2 sebelum perlakuan dan P2 setelah perlakuan.

Selama penelitian ini berlangsung, tikus pada kelompok K mati 2 ekor. Kematian ini kemungkinan karena adanya variasi individual pada tikus dan pengaruh faktor luar yang tidak bisa dikendalikan. Pada kelompok P3, 6 ekor tikus mati pada hari ke-20 penelitian. Kematian ini diperkirakan karena selain efek metotreksat yang mendepresi sumsum tulang, juga efek dari pemberian ekstrak *Nigella sativa* dengan dosis 10 kali dosis lazim, yaitu 2 x 0,8 ml per hari. Depresi sumsum tulang yang

berakibat trombositopeni dapat menyebabkan perdarahan. Selain itu juga dapat terjadi leukositopeni yang menyebabkan tikus rentan terhadap infeksi.¹⁸

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* dosis 2 x 0,08ml per hari selama 14 hari mampu mencegah penurunan jumlah trombosit tikus Wistar yang diberi metotreksat dosis 0,54 mg selama 5 hari.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap jumlah trombosit tikus Wistar yang diberi metotreksat dengan dosis yang lebih bervariasi, waktu penelitian yang lebih panjang, dan penghitungan jumlah trombosit dengan metode yang lebih akurat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memanjatkan puji syukur kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala dan berterima kasih kepada: dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, PhD selaku pembimbing, dr. Ari Adrianto, Sp.B selaku reviewer proposal dan ketua penguji, dr. Nyoman Suci W, M.Kes, PhD, staf laboratorium Parasitologi FK UNDIP, keluarga, teman-teman, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya pembuatan artikel karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sukardja, IDG. Onkologi klinik. Edisi kedua. Surabaya: Airlangga University Press, 2000: 239-54.
2. Van de Velde CJH, Bosman FT, Wagener DJT. Prinsip-prinsip kemoterapi. Di dalam: Sunarto, editor. Onkologi. Edisi kelima. Yogyakarta: Panitia Kanker RSUP Dr. Sardjito, 1999: 217-20.
3. Salmon SE, Sartorelli AC. Kemoterapi kanker. Di dalam: Katzung BG, editor. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi ke-8. Buku 3. Jakarta: Salemba Medika, 2004: 297-313.
4. Nafrialdi, Gan S. Antikanker. Di dalam: Aniswara SG, editor. Farmakologi dan terapi. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi FK UI, 2003: 686-97.
5. Reksodiputro AH, Sudoyo AW, Hafsal A. Kemoterapi kanker. Di dalam: Suyono S, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ketiga. Jilid II. Jakarta: Balai Penerbit FK UI, 2003: 600-04.
6. Baldy CM. Pembekuan. Di dalam: Wijaya C, editor. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi 4. Buku I. Jakarta: EGC, 1995: 264-72.
7. Hoffbrand AV, Pettit JE. Kapita selekta hematologi (Essential haematology). Edisi kedua. Jakarta: EGC, 1996: 1-3; 201-05.
8. Turgeon ML. Clinical hematology theory and procedure. Second edition. Boston: Little Brown, 1998: 273-74.
9. Hendrik. Habbatus sauda dalam menangani berbagai penyakit dan memelihara kesehatan tubuh. Surakarta: Pustaka Al-Umat, 2005: 81-105.

10. Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. Saudi Arabia: Department of Pharmacology, College of Medicine King Faisal University, Damman. [online]. 2002 [2006Dec12]. Available from [URL: http://www.pmrc.gov.pk/nigella.html](http://www.pmrc.gov.pk/nigella.html).
11. *Nigella sativa*. Wikipedia, free encyclopedia [online]. 2006 [2006Nov20] Available from: URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa.
12. Modern research into Black Seed, *Nigella sativa* [online]. 2004 [2006Nov20]. Available from URL: http://www.herbal-goodness/black_seed_research.html.
13. Medenica, Rajko D. Use of *Nigella sativa* to increase immune function [online]. 1996 [2006Dec15] Available from URL: http://www.glodns.net/natumed-co-za/nigella_sativa.asp.
14. Hadisaputro S. Desain penelitian eksperimental. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 1997.
15. Patologi Klinik. Pengantar praktikum patologi klinik I. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2004: 32.
16. Kirana R, Tjay TH. Obat-obat penting, khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya. Edisi 5. Jakarta: PT. Elek Media Komputindo Kelompok Gramedia, 2002: 208.
17. Sopiudin MD. Statistika untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi 1. Jakarta: PT ARKANS, 2004.
18. Patrick Davey. Medicine at a glance. Jakarta : Erlangga, 2006: 82-3.

LAMPIRAN I

PROSEDUR PEMERIKSAAN HITUNG JUMLAH TROMBOSIT

Bahan :

1. Ethanol 70%
2. Giemsa stock + buffer
3. Methanol 90%

Alat :

1. mikroskop
2. tabung hematokrit
3. objek glass bersih
4. spreader
5. gelas ukur

Cara Kerja:

1. Melakukan disinfeksi daerah yang akan dilakukan sampling dengan ethanol 70%
2. Melakukan sampling darah vena sebanyak 0,5 ml dengan tabung hematokrit
3. Mengambil objek glass bersih, letakkan satu tetes darah di sisi kanan objek glass
4. Menyentuh tetesan darah dengan spreader, sehingga darah akan melebar sepanjang spreader, kemudian dorong spreader ke arah kiri dengan sudut 45° , keringkan
5. Memfiksasi preparat dengan methanol 90% selama 10 menit

6. Membuat larutan Giemsa dari Giemsa stock dan buffer dengan perbandingan 1 : 9
7. Menggenangi preparat dengan larutan Giemsa selama 15 menit
8. Mencuci preparat dengan air mengalir
9. Menghitung jumlah trombosit per LPB, dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x objektif
10. Menghitung minimal 3x (dalam lapangan pandang yang berbeda), kemudian dihitung reratanya.

Estimasi jumlah trombosit menurut Barbara Brown = Rerata trombosit x 20.000

Sumber: Petunjuk Praktikum Patologi Klinik I, Bagian Patologi Klinik FK UNDIP

LAMPIRAN II

PROSEDUR PEMBUATAN EKSTRAK MINYAK BIJI JINTAN HITAM

(Nigella sativa)

Bahan:

1. Biji Jintan hitam (*Nigella sativa*) sebanyak 6 kg
2. Petroleum eter 42 liter

Alat:

1. Vacuum penguap

Cara Kerja:

1. Biji *Nigella sativa* dibuat menjadi serbuk.
2. Serbuk *N. sativa* direndam di dalam *Petroleum Eter* selama 5 X 24 jam, dengan perbandingan *N. Sativa* : *Petroleum Eter* = 1kg : 7 liter.
3. Rendaman diuapkan di atas *vacuum* untuk memisahkan minyak dengan pelarut.
4. Didapatkan ekstrak minyak dari biji *Nigella sativa* sebanyak 210 ml.

Sumber : Laboratorium Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

LAMPIRAN III

Tabel Hasil Penghitungan Jumlah Trombosit

Sebelum perlakuan

Kelompok	Tikus	Jumlah tiap LPB						Rerata	x 20000	Jumlah trombosit / mm ³
		1	2	3	4	5	6			
K 1	1	16	12	14	12	8	18	13.33		266667
	2	9	9	7	11	12	10	9.67		193333
	3	8	12	13	11	10	8	10.33		206667
	4	11	13	12	9	10	11	11.00		220000
	5	8	21	9	11	15	16	13.33		266667
	6	16	21	13	11	17	18	16.00		320000
	7	10	12	13	9	8	10	10.33		206667
P1	1	12	14	9	10	15	12	12.00		240000
	2	11	12	8	7	13	9	10.00		200000
	3	18	12	10	11	16	15	13.67		273333
	4	10	13	9	10	12	12	11.00		220000
	5	8	11	12	8	9	6	9.00		180000
	6	16	11	13	12	10	16	13.00		260000
	7	11	14	9	8	12	12	11.00		220000
P2	1	8	16	14	12	13	9	12.00		240000
	2	10	21	11	12	15	17	14.33		286667
	3	11	14	19	11	9	8	12.00		240000
	4	10	10	9	16	13	14	12.00		240000
	5	13	11	7	8	12	13	10.67		213333
	6	10	10	9	8	13	6	9.33		186667
	7	9	6	12	11	8	6	8.67		173333
P3	1	10	11	9	15	13	14	12.00		240000
	2	21	22	25	21	18	21	21.33		426667
	3	11	9	8	13	15	10	11.00		220000
	4	8	9	7	11	12	9	9.33		186667
	5	17	16	14	12	20	11	15.00		300000
	6	10	9	7	8	13	7	9.00		180000
	7	8	12	7	8	9	12	9.33		186667

Setelah perlakuan

Kelompok	Tikus	Jumlah tiap LPB						Rerata	x 20000	Jumlah trombosit / mm ³
		1	2	3	4	5	6			
K	1	8	5	11	10	7	5	7.67		153333
	2	13	14	16	10	12	9	12.33		246667
	3	7	6	6	5	8	4	6.00		120000
	4	5	7	6	4	6	4	5.33		106667
	5	7	8	7	6	5	9	7.00		140000
P1	1	7	9	11	6	6	5	7.33		146667
	2	5	7	4	6	9	5	6.00		120000
	3	10	9	13	14	12	8	11.00		220000
	4	9	5	6	7	8	7	7.00		140000
	5	10	10	6	6	9	11	8.67		173333
	6	6	7	8	6	4	7	6.33		126667
	7	8	7	7	5	6	7	6.67		133333
P2	1	18	13	12	16	15	20	15.67		313333
	2	12	11	14	11	9	11	11.33		226667
	3	13	11	10	9	12	11	11.00		220000
	4	13	12	15	12	9	13	12.33		246667
	5	9	6	8	7	7	7	7.33		146667
	6	12	11	14	10	9	10	11.00		220000
	7	9	12	7	9	10	13	10.00		200000
P3	1	8	12	8	7	9	10	9.00		180000

LAMPIRAN IV

PRE TEST

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Pre Kontrol	.254	5	.200*	.855	5	.210
Perlakuan 1	.163	7	.200*	.973	7	.921
Perlakuan 2	.217	7	.200*	.937	7	.612

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Pre

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.090	2	16	.915

ANOVA

Pre

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71649778	2	35824888.94	.029	.972
Within Groups	2.0E+010	16	1241433833		
Total	2.0E+010	18			

POST TEST

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Post Kontrol	.300	5	.161	.839	5	.163
Perlakuan 1	.269	7	.136	.845	7	.110
Perlakuan 2	.199	7	.200*	.938	7	.618

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Post

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.201	2	16	.820

ANOVA

Post

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.3E+010	2	1.164E+010	5.393	.016
Within Groups	3.5E+010	16	2157931308		
Total	5.8E+010	18			

Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Post
Bonferroni

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Perlakuan 1	1904.876	27200.407	1.000	-70802.69	74612.44
	Perlakuan 2	-71428.600	27200.407	.055	-144136.17	1278.97
Perlakuan 1	Kontrol	-1904.876	27200.407	1.000	-74612.44	70802.69
	Perlakuan 2	-73333.476*	24830.461	.028	-139706.10	-6960.85
Perlakuan 2	Kontrol	71428.600	27200.407	.055	-1278.97	144136.17
	Perlakuan 1	73333.476*	24830.461	.028	6960.85	139706.10

*. The mean difference is significant at the .05 level.

PAIRED SAMPLES T-TEST

KELOMPOK KONTROL (K)

Paired Samples Test

		Pair 1
		Pre - Post
Paired Differences	Mean	77333.400
	Std. Deviation	74476.345
	Std. Error Mean	33306.834
95% Confidence Interval of the Difference	Lower	-15141.2
	Upper	169808.0
t		2.322
df		4
Sig. (2-tailed)		.081

KELOMPOK PERLAKUAN 1 (P1)

Paired Samples Test

		Pair 1
		Pre - Post
Paired Differences	Mean	76190.476
	Std. Deviation	38845.647
	Std. Error Mean	14682.275
95% Confidence Interval of the Difference	Lower	40264.244
	Upper	112116.7
t		5.189
df		6
Sig. (2-tailed)		.002

KELOMPOK PERLAKUAN 2 (P2)

Paired Samples Test

		Pair 1
		Pre - Post
Paired Differences	Mean	952.286
	Std. Deviation	51124.689
	Std. Error Mean	19323.316
95% Confidence Interval of the Difference	Lower	-46330.2
	Upper	48234.737
t		.049
df		6
Sig. (2-tailed)		.962