



**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

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

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana

Disusun oleh :

**Dian Kusuma Wardhani**

NIM : G2A 003 056

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2007**

## HALAMAN PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah

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

Disusun oleh:

Dian Kusuma Wardhani

G2A 003 056

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 SEED (*Nigella sativa*) EXTRACT ON LEUKOCYTES COUNT OF METHOTREXATE TREATED RATS***

Dian Kusuma Wardhani <sup>1)</sup>, Noor Wijayahadi <sup>2)</sup>

## ***ABSTRACT***

***Background :*** The side effects of methotrexate such as bone marrow depression could bring into fall in leukocytes count condition. Black seed had been known to has the effect of bone marrow stimulation. The objective of this study is to prove the effect of the oil extract of black seed on leukocytes count of methotrexate-treated rats.

***Method :*** This study was an experimental study with Randomized Pre and Post Test Control Group Design. Samples were 28 Wistar rats, divided randomly into 4 groups (control group, first test group, second test group and third test group). All groups were treated with 0,54 mg methotrexate orally on the 16<sup>th</sup> until 20<sup>th</sup> day. On the 8<sup>th</sup> until 21<sup>st</sup> day, all treatment group were treated with black seed extract twice daily orally at dose 0,008 ml for the first test group, 0,08 ml for the second test group and 0,8 ml for the third test group. Leukocytes were counted on the 7<sup>th</sup> and 22<sup>nd</sup> day using Neubauer Improved chamber. The blood samples were obtained from the retro orbital vein.

***Result :*** Leukocytes count of the Wistar rats after methotrexate and black seed treatment among the treatment groups was decreased significantly ( $p < 0,05$  on paired t-test).

***Conclusion :*** The administration of black seed extract could not increase leukocytes count of methotrexate-treated rats.

***Keywords :*** methotrexate, black seed, leukocytes count

1) Student of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

2) Pharmacology and Therapeutics Department of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

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

Dian Kusuma Wardhani <sup>1)</sup>, Noor Wijayahadi <sup>2)</sup>

## **ABSTRAK**

**Latar belakang :** Metotreksat memiliki efek samping yang berbahaya yaitu menekan proses hematopoiesis pada sumsum tulang sehingga terjadi penurunan jumlah leukosit. Biji jintan hitam diketahui memiliki efek stimulasi proliferasi sumsum tulang. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak minyak biji jintan hitam dalam meningkatkan jumlah leukosit tikus Wistar yang diberi metotreksat.

**Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Randomized Pre and Post Test Control Group Design*. Sampel terdiri dari 28 ekor tikus Wistar dan dibagi dalam 4 kelompok secara acak menjadi kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Seluruh kelompok diberi metotreksat 0,54 mg per oral pada hari ke-16 sampai hari ke-20. Pada hari ke-8 sampai hari ke-21 ketiga kelompok perlakuan diberi ekstrak minyak biji jintan hitam 2x/hari per oral dengan dosis 0,008 ml untuk kelompok P1, 0,08 ml untuk kelompok P2 dan 0,8 ml untuk kelompok P3. Jumlah leukosit diperiksa pada hari ke-7 dan hari ke-22 dengan metode konvensional menggunakan bilik hitung *Neubauer Improved*. Sampel darah diambil dari vena retro orbita.

**Hasil :** Jumlah leukosit tikus Wistar setelah diberi metotreksat dan ekstrak minyak biji jintan hitam pada kelompok perlakuan mengalami penurunan yang bermakna (nilai  $p < 0,05$  pada uji t-berpasangan).

**Kesimpulan :** Ekstrak biji jintan hitam tidak terbukti meningkatkan jumlah leukosit tikus wistar yang diberi metotreksat .

**Kata kunci :** metotreksat, jintan hitam, jumlah leukosit

- 1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- 2) Staf Pengajar bagian Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

## **PENDAHULUAN**

Metotreksat merupakan antimetabolit yang bekerja sebagai antagonis folat. Metotreksat merupakan analog 4-amino, N<sup>10</sup>-metil asam folat.<sup>1</sup> Obat ini banyak digunakan sebagai kemoterapi antikanker, dan sangat efektif pada leukemia, tumor solid dan koriokarsinoma, beberapa penyakit autoimun seperti dermatomyositis, Wegener's granulomatosis, penyakit Crohn, arthritis reumatoid dan psoriasis.<sup>1,2</sup> Metotreksat bekerja menghambat enzim dihidrofolat reduktase.<sup>1,2</sup> <sup>3</sup> Dihidrofolat reduktase adalah enzim yang mengkatalisis dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat pada sintesis asam folat. Asam folat dibutuhkan sebagai bahan dasar sintesis DNA. Antagonis folat khususnya bekerja pada sintesis DNA dan RNA, terutama pada sel-sel yang membelah dengan cepat, misalnya pada keganasan dan sel-sel myeloid/sumsum tulang.<sup>4</sup> Dengan demikian, pemakaian metotreksat sebagai terapi keganasan mempunyai efek samping yang cukup membahayakan yaitu terjadi penekanan pada proses hematopoiesis di sumsum tulang. Hal tersebut dapat dilihat melalui penurunan jumlah leukosit di sirkulasi darah tepi.<sup>1, 2, 3, 4</sup>

Leukosit dibentuk melalui leukopoesis yang merupakan bagian dari hematopoiesis. Leukosit berfungsi sebagai alat pertahanan terhadap masuknya benda asing dalam tubuh, khususnya mikroorganisme.<sup>5</sup> Pembentukan immunoglobulin atau antibodi spesifik terhadap suatu kuman penyakit juga diperankan oleh leukosit terutama limfosit. Penurunan jumlah leukosit (leukopenia) pada pasien-pasien yang mengalami depresi sumsum tulang akibat kemoterapi antikanker seperti metotreksat dapat menyebabkan turunnya imunitas,

sehingga penderita menjadi sangat rentan terhadap infeksi oportunistik.<sup>6</sup>

Beberapa penelitian terdahulu menyebutkan bahwa biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan kembali jumlah leukosit hewan coba yang mengalami penurunan karena keadaan-keadaan tertentu, seperti pada keadaan diabetes,<sup>7, 8</sup> pemberian CCl<sub>4</sub><sup>9</sup> dan pemberian oksitetrasiklin,<sup>10</sup> maupun pada hewan coba sehat yang diberikan ekstrak biji jintan hitam.<sup>11</sup> Peningkatan jumlah leukosit ini terjadi melalui mekanisme stimulasi proliferasi sumsum tulang.<sup>12, 13</sup> Mekanisme stimulasi tersebut menunjukkan peningkatan yang cukup bermakna pada jumlah CFU (*Colony Forming cell Unit*), yang melibatkan komponen-komponen hemopoetik, antara lain GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*), G-CSF (*Granulocyte Colony-Stimulating Factor*), eritropoetin, interferon dan IL-2; yang menunjukkan peningkatan yang cukup besar dan efektif untuk memacu proses hematopoesis dan sistem kekebalan tubuh.<sup>12</sup> Dalam hubungannya dengan leukopoiesis, komponen yang berperan antara lain GM-CSF, G-CSF dan IL-2.<sup>14, 15</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak minyak biji jintan hitam dapat meningkatkan jumlah leukosit tikus Wistar yang diberi metotreksat.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi tentang pengaruh pemberian ekstrak minyak biji *Nigella sativa* terhadap jumlah leukosit tikus Wistar yang diberi metotreksat sehingga dapat dimungkinkan untuk diterapkan pada pasien-pasien yang mendapat terapi metotreksat. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi acuan yang dapat dipergunakan untuk

penelitian selanjutnya.

## **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Randomized Pre and Post Test Control Group Design* dengan menggunakan binatang percobaan tikus galur Wistar sebagai objek penelitian.

Besarnya sampel yang diambil diperoleh dengan menggunakan rumus Federer. Sampel yang digunakan adalah 28 ekor tikus galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi yaitu tikus jantan, berumur 12-16 minggu, berat badan 180-250 gram dan dalam kondisi sehat. Kriteria eksklusinya adalah tikus yang tampak sakit sebelum penelitian dan terdapat kelainan anatomi. Sedangkan kriteria *drop out*-nya adalah tikus yang mati selama adaptasi atau selama penelitian berlangsung.

Variabel penelitian ini adalah ekstrak minyak biji *Nigella sativa* dengan dosis bertingkat 0,008 ml, 0,08 ml dan 0,8 ml sebagai variabel bebasnya. Variabel perantara adalah metotreksat dengan dosis 0,54 mg/hari. Variabel tergantung adalah jumlah leukosit yang dihitung dengan metode konvensional menggunakan bilik hitung *Neubauer Improved*.

Alat yang digunakan meliputi sonde lambung 0,5 cc, spuit, mortar dan stamper, kandang tikus, tabung reaksi, pipet kapiler, bilik hitung *Neubauer Improved*, kaca penutup, pipet leukosit dan mikroskop. Bahan yang digunakan

meliputi ekstrak minyak biji *Nigella sativa* yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta; metotreksat yang diperoleh dari apotek Kimia Farma, Semarang; pakan tikus standar, sampel darah, larutan EDTA dan larutan Turk.

Tikus Wistar yang berjumlah 28 ekor dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Setiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus yang ditentukan secara acak dan dikandangkan di Laboratorium Parasitologi FK UNDIP. Selama penelitian, tikus mendapat pakan standar dan minum yang sama. Untuk adaptasi, selama 7 hari seluruh tikus hanya diberi pakan dan minum standar. Pada hari ke-7 dilakukan pengambilan sampel darah tepi dari vena retroorbita dan dilakukan penghitungan jumlah leukosit dengan menggunakan bilik hitung *Neubauer Improved*.<sup>16</sup> Setelah 7 hari, semua sampel tetap diberi pakan standar. Pada hari ke-16 sampai hari ke-20 seluruh kelompok diberi metotreksat per oral dengan dosis 0,54 mg per hari. Dosis tersebut diperoleh dari konversi dosis metotreksat yang dapat menimbulkan efek depresi sumsum tulang secara cepat terhadap manusia, yaitu 25-30 mg<sup>17</sup> dikalikan 0,01824.<sup>18</sup> Pada hari ke-8 sampai hari ke-21 ketiga kelompok perlakuan diberi ekstrak minyak biji *Nigella sativa* 2x/hari per oral. Ekstrak minyak biji *Nigella sativa* yang diberikan kepada tikus Wistar juga diperoleh dari konversi dosis yang mampu memberikan efek stimulasi proliferasi sumsum tulang pada manusia dengan dikalikan 0,01824.<sup>18</sup> Dari perhitungan tersebut diperoleh dosis 0,08 ml. Pada penelitian ini digunakan dosis bertingkat dengan alur logaritmik, yaitu 0,008 ml (untuk kelompok P1), 0,08 ml (untuk kelompok P2) dan 0,8 ml



(untuk kelompok P3). Pada hari ke-22 kembali dilakukan pengambilan sampel darah tepi dari vena retroorbita dan dilakukan penghitungan jumlah leukosit dengan menggunakan bilik hitung *Neubauer Improved*.<sup>16</sup>

Data penelitian diperoleh dari hasil penghitungan jumlah leukosit tikus Wistar pada tiap kelompok, sebelum dan setelah perlakuan. Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengukuran di laboratorium. Data tersebut kemudian diproses dengan menggunakan program SPSS 15.0 *for Windows*. Uji distribusi data dilakukan dengan uji *Saphiro-Wilk*. Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene*. Karena distribusi data normal, dilanjutkan dengan uji beda menggunakan statistik parametrik *One Way ANOVA*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* jika terdapat perbedaan bermakna. Selanjutnya dilakukan uji t-berpasangan antara data pre (sebelum perlakuan) dan post (setelah perlakuan) dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$ .<sup>19</sup>

## **HASIL**

Pada penelitian ini terdapat 8 sampel yang masuk kriteria *drop out*, yaitu 2 sampel pada kelompok K (mati pada hari ke-21 penelitian) dan 6 sampel pada kelompok P3 (mati pada hari ke-20 penelitian). Data jumlah leukosit pada kelompok P3 tidak disertakan karena tidak dapat diolah secara statistik.

Data jumlah leukosit sebelum dan setelah perlakuan pada kelompok K, P1 dan P2 dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

---

Tabel 1. Jumlah leukosit tikus Wistar sebelum perlakuan (per ml darah)

Uji statistik data jumlah leukosit sebelum perlakuan (Pre) menunjukkan distribusi data normal pada uji *Saphiro-Wilk* ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas data (*Levene Test*) menunjukkan varian data homogen ( $p = 0,528$ ). Uji statistik parametrik *One Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna terhadap jumlah leukosit pada tiap kelompok ( $p = 0,020$ ). Uji *Post Hoc* menunjukkan perbedaan bermakna terdapat pada kelompok P1 dan kelompok P2 (nilai  $p = 0,029$ ).

Tabel 2. Jumlah leukosit tikus Wistar setelah perlakuan (per ml darah)

Uji statistik data jumlah leukosit setelah perlakuan (Post) menunjukkan distribusi data tidak normal pada uji *Saphiro-Wilk* ( $p < 0,05$ ) yaitu pada kelompok P2. Oleh karena itu dilakukan transformasi data agar distribusi menjadi normal menggunakan fungsi log. Uji *Saphiro-Wilk* pada data yang ditransformasi

menunjukkan distribusi data normal ( $p > 0,05$ ). Kemudian dilakukan uji homogenitas data (*Levene Test*) menunjukkan varian data homogen ( $p = 0,319$ ). Uji statistik parametrik *One Way ANOVA* menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap jumlah leukosit pada tiap kelompok ( $p = 0,570$ ).

Gambar 1. Diagram rerata jumlah leukosit Pre dan Post

Data jumlah leukosit tikus Wistar sebelum dan setelah perlakuan dibandingkan dengan lebih jelas pada Gambar 1, dimana tampak terjadi penurunan jumlah leukosit setelah perlakuan (Post). Uji t-berpasangan antara data Pre dan Post menunjukkan terdapat penurunan jumlah leukosit yang bermakna pada semua kelompok (K, P1 dan P2) ( $p < 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Uji statistik data pre menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada jumlah leukosit tikus Wistar antara kelompok P1 dan P2, yaitu jumlah leukosit pada kelompok P2 lebih rendah daripada jumlah leukosit pada kelompok P1. Hal ini menunjukkan kemungkinan terdapat variasi individual pada tikus kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2, meskipun telah dilakukan adaptasi selama 7 hari dan belum diberi perlakuan apapun.

Uji statistik data post menunjukkan jumlah leukosit tikus Wistar setelah perlakuan mengalami penurunan yang bermakna, namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dari kepustakaan disebutkan bahwa pemakaian metotreksat dapat menyebabkan efek samping berupa penekanan proses hematopoiesis di sumsum tulang yang dapat menyebabkan turunnya jumlah leukosit,<sup>1, 2, 3, 4</sup> terutama pada hari ke-5 sampai ke-10 pemberian obat.<sup>2</sup> Pustaka lain menyebutkan bahwa ekstrak biji *Nigella sativa* dapat meningkatkan jumlah leukosit melalui mekanisme stimulasi proliferasi sumsum tulang pada dosis 2,5-5 ml 2x/hari,<sup>20</sup> sehingga diharapkan dapat mengurangi efek samping metotreksat terhadap proses hematopoiesis di sumsum tulang. Penurunan jumlah leukosit pada penelitian ini diperkirakan karena efek samping metotreksat, yaitu depresi sumsum tulang, karena tidak ada perbedaan bermakna antara jumlah leukosit tikus Wistar yang diberi ekstrak biji *Nigella sativa* (kelompok perlakuan) dengan yang tidak diberi ekstrak biji *Nigella sativa* (kelompok kontrol). Sehingga dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* dengan dosis bertingkat tidak menimbulkan

efek peningkatan jumlah leukosit dan tidak dapat mengurangi efek samping metotreksat terhadap proses hematopoiesis di sumsum tulang.

Mekanisme kerja metotreksat adalah melalui inhibisi enzim dihidrofolat reduktase yang juga dapat menimbulkan efek samping berupa depresi sumsum tulang dengan cepat dan mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai ke-10 pemakaian obat.<sup>2</sup> Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa mekanisme stimulasi leukopoiesis di sumsum tulang oleh ekstrak *Nigella sativa* adalah melalui peningkatan komponen hemopoetik yang dapat memacu leukopoiesis di sumsum tulang, seperti GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*), G-CSF (*Granulocyte Colony-Stimulating Factor*), dan IL-2 (*Interleukin-2*).<sup>12</sup> Namun efek ini tidak langsung berpengaruh pada sumsum tulang, melainkan melalui perangsangan sel-sel penghasil komponen hemopoetik tersebut, seperti sel stroma, sel-sel endotel pembuluh darah, sel fibroblas, sel adipose serta matriks ekstraseluler.<sup>14, 21</sup> Selain itu, kemungkinan metotreksat juga memberi efek supresi pada sel-sel tersebut, sehingga sel-sel tersebut tidak mampu bekerja sesuai dengan yang diharapkan. Hal ini kemungkinan yang menyebabkan efek ekstrak biji *Nigella sativa* terhadap stimulasi proliferasi sel-sel hemopoetik di sumsum tulang lebih lambat atau kurang adekuat dibandingkan efek metotreksat terhadap depresi sumsum tulang.

Hal lain yang dapat mempengaruhi ketidakmampuan ekstrak *Nigella sativa* dalam menstimulasi leukopoiesis di sumsum tulang antara lain absorpsi ekstrak yang tidak adekuat di saluran cerna tikus Wistar, yang dapat disebabkan oleh adanya makanan di saluran cerna. Belum adanya penelitian yang

menjelaskan farmakodinamik dan farmakokinetik ekstrak minyak *Nigella sativa* menyebabkan faktor-faktor eksternal lain yang berasal dari hewan coba yang dapat mempengaruhi penelitian ini tidak dapat dikendalikan.

Kematian 2 sampel pada kelompok K mungkin disebabkan oleh efek samping metotreksat (trombositopeni dan leukopeni), sedangkan kematian 6 dari 7 sampel tikus pada kelompok P3 diperkirakan karena akumulasi efek samping pemberian metotreksat dan toksisitas ekstrak biji *Nigella sativa* dengan dosis 10x dosis lazim.

## **KESIMPULAN**

Ekstrak minyak biji *Nigella sativa* tidak terbukti meningkatkan jumlah leukosit tikus Wistar yang diberi metotreksat 0,54 mg per hari.

## **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstrak biji *Nigella sativa* untuk membuktikan efeknya terhadap jumlah leukosit tikus Wistar dengan memperhatikan hal-hal seperti pembuatan ekstrak dengan standar yang sama dengan penelitian-penelitian sebelumnya, waktu penelitian yang lebih lama, rentang dosis yang lebih bervariasi, serta analisa laboratorium 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, MKes, PhD selaku dosen pembimbing, dr. Ari Adrianto, Sp.B-KBD selaku reviewer proposal, staf laboratorium Parasitologi FK UNDIP, staf laboratorium Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, keluarga, teman-teman dan pihak-pihak lain yang telah membantu terlaksananya pembuatan artikel penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nafrialdi, Gan S, Tirza D, Handoko T. Antikanker dan imunosupresan. In: Setiabudi R, Suyatma FD, Purwastyastuti, editors. Farmakologi dan terapi. Jakarta: Gaya Baru; 2003: 686-713
2. Brunton LC, Lazo JS, Parker KL. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. Eleventh edition. USA: McGraw-Hill; 2006: 1335-39
3. No Author. Methotrexate. In: USP DI® Drug information for the health care professional. Harrison's 15 CD-ROM. McGraw-Hill; 2001
4. Methotrexate [online]. 2006 [2006Dec15]. Available from URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Methotrexate.html>
5. Marsh JC, Boggs DR. Leukosit dan sel-sel induk hemopoetik. In: Suyono J, editor. Patofisiologi sodeman. Jakarta: Hipokrates; 1995: 228-303
6. Sjamsuhidajat R, Wim de Jong, editor. Buku ajar ilmu bedah. Edisi 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2005: 131-64
7. Meral I, Donmez N, Baydas B, Belge F, Kanter M,. Effect of *Nigella sativa L.* on heart rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. Scand J Lab Anim Sci 2004; 31(1)
8. Demir H, Kanter M, Coskun O, Uz YH, Koc A, Yildiz A. Effect of black cumin (*Nigella sativa*) on heart rate, some hematological values, and pancreatic beta-cell damage in cadmium-treated rats. Biol Trace Elem Res. 2006; 110(2) : 151-62
9. Meral I, Kanter M. Effects of *Nigella sativa L.* and *Urtica dioica L.* on



- selected mineral status and hematological values in CCl<sub>4</sub>-treated rats. *Biol Trace Elem Res.* 2003; 96(1-3) : 263-70
10. Al-Ankari AS. Immunomodulating effects of black seed and oxytetracycline in pigeons. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2005; 27(3) : 515-20
  11. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res.* 2003; 17(4) : 299-305
  12. Medenica, Rajko D. Use of *Nigella sativa* to increase immune function [online]. 1996 [2006Dec07]. Available from URL: [www.freepatentsonline.com](http://www.freepatentsonline.com)
  13. Black cummin seed (*Nigella Sativa L.*) [online]. 2004 [2006Dec15]. Available from URL: [https://www.glodns.net/natumed-co-za/nigella\\_sativa.asp](https://www.glodns.net/natumed-co-za/nigella_sativa.asp)
  14. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Marcellus SK, Setiati S, editors. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Jilid II. Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI; 2006: 629-31; 849-54
  15. Quesenberry PJ, Colvin GA. Hematopoiesis. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 15<sup>th</sup> edition. CD-ROM. New York : McGraw-Hill; 2001
  16. Gandasoebata R. Penuntun laboratorium klinik. Jakarta : Penerbit Dian Rakyat; 1995: 15-18
  17. Tjay TH, Rahardja K. Obat-obat penting. Edisi ke 5. Jakarta: PT Elex Media Komputindo; 2002
  18. Nurlaila, Donatus IA, Sugiyanto, Wahyono J, Suhardjono D. Petunjuk

- praktikum toksikologi. Edisi I. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM; 1992
19. Sopiudin MD. Statistika untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi 1. Jakarta: PT ARKANS; 2004
  20. Hendrik H. Habbatus sauda' dalam menangani berbagai penyakit dan memelihara kesehatan tubuh. Surakarta: Pustaka Al-Ummat; 2005: 77-120
  21. Mozza JJ. Manual of clinical hematology. Third edition. USA: Lippincott William and Wilkins; 2002