



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS WISTAR YANG DIBERI METOTREKSAT

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

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

Oleh

Nama : Lady Pranodia Sukmawidowati

NIM : G2A003103

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2007

HALAMAN PENGESAHAN

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS WISTAR YANG DIBERI METOTREKSAT

Telah diuji dan dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 25 Juli 2007 dan telah diperbaiki sesuai saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI,

Ketua Penguji

dr. RB Bambang Witjahjo, M.Kes

NIP. 131 281 555

Penguji

Pembimbing

Dra. Henna Rya Sunoko, Apt, MES

NIP. 320 002 500

dr. Budhi Surastrri

NIP. 130 810 114

Effect of *Nigella sativa* (Black Cumin) Extract on Liver Histopathological Pattern of Wistar Rat Administered with Methotrexate

Lady Pranodia. S¹, Budhi Surastr²

Abstract

Background: Methotrexate is one of anti folate agent widely used in therapy of various malignancies and autoimmune disease. An acute administration results in elevation of liver transaminase which indicates a disturbance of the liver cells, while a chronic administration results in liver fibrosis and cirrhosis. *Nigella sativa* has been scientifically proven to have a hepatoprotective effect against liver damage induced by CCl₄ administration and *Schistosoma mansoni* infestation. The purpose of this research is to investigate this herb hepatoprotective effect against methotrexate-induced liver damage by observing liver histopathological changes.

Method: Twenty five adult male wistar rats were divided randomly into five groups. One group was kept without treatment, another group was administered only with 0.54 mg methotrexate orally, and three other groups were given *N. sativa* in addition of methotrexate administration. First group was given 0.008 ml twice a day, second group 0.08 ml twice a day, and third group 0.8 ml twice a day. Each liver specimen was processed and the histopathological changes were observed. The degree of liver damage was determined by Histological Activity Index (HAI) Knodell score. The data were analyzed with Kruskal Wallis test continued by Mann-Whitney test.

Result: Total HAI Knodell score on the group administered with methotrexate only is significantly higher than the group without treatment. While the group treated with 0.008 ml and 0.08 ml *N. sativa* showed a lower HAI Knodell score compared to the group treated with methotrexate only, with the lower dose had a lower score, but both are statistically not significant. Five of six rats on the group treated with 0.8 ml *N. sativa* died before termination.

Conclusion: *N. sativa* is not significant in reducing liver histopathological change induced by methotrexate administration.

Keywords: *N. sativa*, methotrexate, liver histopathologic pattern, HAI Knodell score.

¹Undergraduate student of Medical Faculty Diponegoro University Semarang

²Lecturer on Department of Pharmacology, Medical Faculty Diponegoro University Semarang

Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji *Nigella sativa* (Jintan Hitam) Terhadap Gambaran Histopatologis Hati Tikus Wistar yang Diberi Metotreksat

Lady Pranodia. S¹, Budhi Surastr²

Abstrak

Latar belakang: Metotreksat merupakan salah satu preparat anti folat yang banyak digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit keganasan dan autoimun. Pemberian akut metotreksat menyebabkan kenaikan enzim transaminase hati yang mengindikasikan adanya kerusakan sel hati, sedangkan pemberian kronik menyebabkan fibrosis dan sirosis hati. *Nigella sativa* telah terbukti secara ilmiah memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hati akibat induksi CCl₄ dan infestasi *Schistosoma mansoni*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek hepatoprotektif tanaman ini terhadap kerusakan hati akibat pemberian metotreksat.

Metode: Dua puluh lima ekor tikus wistar jantan dewasa dibagi menjadi lima kelompok secara acak. Satu kelompok tidak diberi perlakuan, satu kelompok lagi hanya diberi metotreksat per oral, dan tiga kelompok sisanya diberi *N.sativa* dosis bertingkat di samping pemberian metotreksat. Kelompok pertama diberi 0,008 ml dua kali sehari, kelompok kedua 0,08 ml dua kali sehari, dan kelompok ketiga 0,8 ml dua kali sehari. Hati masing-masing tikus kemudian dibuat preparat dan perubahan histopatologisnya diamati. Derajat kerusakan hati dinilai dengan skor *Histological Activity Index (HAI)* Knodell. Data dianalisa dengan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Hasil: Total skor HAI Knodell pada kelompok yang diberi metotreksat saja meningkat secara bermakna dibanding yang tidak diberi perlakuan. Sementara kelompok yang diberi *N.sativa* dosis 0,008 ml dan 0,08 ml menunjukkan penurunan skor HAI Knodell yang tidak bermakna dibanding yang diberi metotreksat saja, dengan dosis 0,008 ml menunjukkan skor lebih rendah. Lima dari enam tikus pada kelompok yang diberi *N.sativa* 0,8 ml mati sebelum terminasi.

Kesimpulan: *N.sativa* tidak dapat mengurangi kerusakan hati akibat pemberian metotreksat secara bermakna.

Kata kunci: *N. sativa*, metotreksat, gambaran histopatologis hati, skor HAI Knodell

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

² Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

PENDAHULUAN

Metotreksat merupakan preparat antimetabolit yang banyak digunakan. Selain sebagai antikanker, metotreksat juga digunakan untuk mengakhiri kehamilan ektopik, serta dalam dosis rendah untuk keperluan pengobatan berbagai penyakit autoimun seperti psoriasis, artritis rheumatoid, dan penyakit Crohn.¹ Mekanisme kerja metotreksat adalah dengan menghambat sintesis DNA, RNA, dan protein¹ sehingga banyak menimbulkan efek samping, terutama pada sel-sel yang cepat membelah.

Salah satu organ tubuh yang terpengaruh oleh efek samping metotreksat adalah hati. Penggunaan metotreksat akut dosis tinggi dapat mempengaruhi *liver function test*, antara lain peningkatan aminotransferase² yang biasanya mengarahkan pada perlukaan hepatoselular atau inflamasi.³ Sedangkan penggunaan secara kronik dapat menimbulkan hepatotoksisitas yang dapat berlanjut menjadi fibrosis dan sirosis hati, dan akhirnya berlanjut menjadi kematian.²

Nigella sativa, yang di Indonesia dikenal sebagai jintan hitam, adalah suatu tanaman obat yang banyak ditemukan di sepanjang dataran negara Pakistan sampai India dalam bentuk semak-semak tanaman. Tanaman ini sudah sering dipakai dalam pengobatan tradisional di beberapa negara di benua Asia terutama Asia Timur bagian tengah, untuk mengangkat derajat kesehatan dan pengobatan pada banyak penyakit ringan seperti demam, flu, sakit kepala, asma, rematik, beberapa jenis infeksi bakteri, kecacingan, keracunan akibat sengatan binatang, serta dapat dijadikan sebagai zat penyedap makanan.^{4,5,6} Dalam beberapa

penelitian, tanaman obat tradisional ini juga terbukti memiliki efek anti hepatotoksik terhadap berbagai bentuk kerusakan hati, di antaranya kerusakan hati yang terjadi akibat karbon tetraklorida⁷ dan infeksi *Schistosoma mansoni*.⁸ Komponen utamanya adalah *thymoquinone* (sampai 50%), selain itu juga terdapat *p-cymene* (40%), α -pinene (hingga 15%), *dithymoquinone*, dan *thymohydroquinone*.⁽⁴⁾

Dalam penelitian ini diteliti efek anti hepatotoksik *Nigella sativa* terhadap kerusakan hati pada awal pemberian metotreksat, yang dilihat dari perbaikan gambaran histopatologinya. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian *Nigella sativa* terhadap gambaran histopatologi hati tikus wistar yang diberi metotreksat, dengan membandingkan antara gambaran histopatologis hati tikus yang diberi metotreksat saja dan yang diberi metotreksat dan ekstrak biji *Nigella sativa*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat praktis kepada berbagai pihak, antara lain sebagai bahan pertimbangan dalam pemanfaatan *Nigella sativa* sebagai salah satu alternatif dalam membantu mencegah kerusakan hati, dan sebagai sumber acuan bagi penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan rancangan *randomized control trial* yang menggunakan hewan coba tikus wistar sebagai objek penelitian. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Populasi penelitian adalah tikus wistar jantan berusia 12-16 minggu dengan berat badan rata-rata 180-200 gram, yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas UGM Yogyakarta.

Sampel diambil secara acak (random) dari populasi. Besarnya sampel yang akan diambil dihitung dengan menggunakan rumus Federer. Dalam penelitian ini tikus wistar dibagi menjadi 5 kelompok, sehingga didapatkan jumlah sampel tiap kelompok sebanyak 5 ekor. Untuk mengantisipasi terjadinya *drop out* maka jumlah sampel diperbesar menjadi 30 sehingga jumlah tikus tiap kelompok sebanyak 6 ekor.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar, ekstrak biji *Nigella sativa*, metotreksat tablet, pakan tikus standar, bahan pembuatan preparat sesuai metode baku histopatologi, dan bahan untuk pembuatan ekstrak biji *Nigella sativa*. Metotreksat tablet diperoleh dari apotek Kimia Farma Semarang. Dosis metotreksat yang digunakan adalah 0,54 mg, yang diperoleh dari dosis toksik metotreksat untuk manusia yaitu 30 mg⁹, setelah dikonversi ke dosis untuk tikus. Sedangkan ekstrak minyak *Nigella sativa* diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Kadar *Nigella sativa* dalam ekstrak minyak ini kurang lebih 30 gram/ml. Dosis *Nigella sativa* yang digunakan adalah 0,008 ml; 0,08 ml; dan 0,8 ml. Dosis ini didapat dari logaritma dosis yang lazim digunakan di masyarakat, yaitu 25 – 50 ml per hari¹⁰, setelah dikonversi ke dosis tikus.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, sonde lambung, alat untuk pembuatan ekstrak biji *Nigella sativa*, alat untuk

pembuatan preparat sesuai metode baku histopatologi, dan alat untuk melihat histologik hepar (*deckglass, object glass*, mikroskop cahaya).

30 ekor tikus wistar dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yaitu K1, K2, P1, P2, dan P3, yang masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus. Masing-masing kelompok dikandangkan secara terpisah di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Selama penelitian, tikus mendapatkan makan dan minum standar yang sama. Untuk adaptasi, selama 7 hari seluruh tikus hanya diberi makan dan minum standar dan diawasi kesehatannya.

Dari hari ke-8 sampai hari ke-15 kelompok P1 diberi *Nigella sativa* per oral menggunakan sonde lambung dua kali per hari dengan dosis 0,008 ml, kelompok P2 diberi *Nigella sativa* per oral menggunakan sonde lambung dua kali per hari dengan dosis 0,08 ml, dan kelompok P3 diberi *Nigella sativa* per oral menggunakan sonde lambung dua kali per hari dengan dosis 0,8 ml. Sedangkan kelompok K1 dan K2 hanya diberi air dengan menggunakan sonde lambung untuk menyamakan tingkat stresor. Kemudian pada hari ke-16 sampai hari ke-20 kelompok K2, P1, P2, dan P3 diberi metotreksat peroral menggunakan sonde lambung dengan dosis 0,54 mg per hari. Selama pemberian metotreksat sampai hari ke-21, kelompok P1, P2, dan P3 tetap mendapat *Nigella sativa* dua kali per hari masing-masing dengan dosis 0,008 ml, 0,08 ml, dan 0,8 ml. Kelompok K1 sebagai kontrol tidak diberi perlakuan apapun, hanya diberi air dengan menggunakan sonde lambung sampai penelitian selesai. Selama perlakuan semua kelompok tetap mendapatkan pakan standar.

Pada hari ke-22, tikus diterminasi, diambil hatinya, difiksasi dengan

formalin lalu dibuat preparat untuk pemeriksaan mikroskopis. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang. Hanya lima dari enam tikus yang diperiksa pada masing-masing kelompok, karena dari rumus Federer didapatkan jumlah sampel yang dibutuhkan tiap kelompok hanya lima. Pembacaan preparat dilakukan di Laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Preparat dibaca dengan metode *Histology Activity Index (HAI) Knodell score*, yang meliputi *periportal ± bridging necrosis*, degenerasi intralobular dan nekrosis fokal, inflamasi portal, dan fibrosis.¹¹

Untuk degenerasi intralobular diberi skor 0 bila tidak terdapat degenerasi; skor 1 bila terdapat degenerasi intralobular atau nekrosis fokal hepatosit pada kurang dari 1/3 lobulus; skor 3 bila terdapat pada 1/3 – 2/3 lobulus, dan skor 4 bila terdapat pada lebih dari 2/3 lobulus.¹¹

Sedangkan inflamasi portal diberi skor 0 bila tidak terdapat inflamasi portal, skor 1 bila terdapat sel radang pada kurang dari 1/3 traktus portal, skor 3 bila terdapat peningkatan sel radang pada 1/3 – 2/3 traktus portal, dan skor 4 bila terdapat pepadatan sel radang pada lebih dari 2/3 traktus porta.¹¹

Periportal necrosis dan *bridging necrosis* diberi skor 0 bila tidak ditemukan; skor 1 bila ditemukan nekrosis periportal ringan; skor 3 bila ditemukan nekrosis sedang (melingkupi kurang dari 50% traktus porta); skor 4 bila ditemukan nekrosis periportal berat (melingkupi lebih dari 50% traktus porta); skor 5 bila ditemukan nekrosis periportal sedang ditambah *bridging necrosis*; skor 6 bila ditemukan nekrosis periportal berat ditambah *bridging*

nekrosis; dan skor 10 bila ditemukan nekrosis multilobular.¹¹

Fibrosis hati juga memiliki perhitungan tersendiri, namun perhitungan tidak dilakukan karena memang tidak ditemukan.

Masing-masing preparat dibaca dengan melihat 6 lobulus dan 6 traktus porta secara acak. Kemudian pada lobulus dicari adanya degenerasi intralobular dan nekrosis fokal, kemudian dihitung jumlah lobulus yang di dalamnya terdapat degenerasi hepatosit dan nekrosis fokal. Sedangkan pada traktus porta dilihat adanya sebaran sel radang, kemudian dihitung jumlah traktus porta yang mengalami inflamasi. Adanya sel radang pada traktus porta adalah hal yang normal, karena itu yang dimasukkan dalam pembacaan hanya traktus porta yang sel radangnya terlihat mengalami peningkatan. Hasil pembacaan untuk degenerasi intralobular, inflamasi portal, dan nekrosis periportal tadi kemudian dijumlahkan pada masing-masing individu.

Data yang dikumpulkan berupa data primer dari pemeriksaan gambaran histopatologis hati tikus wistar di laboratorium Patologi Anatomi. Data diproses dengan menggunakan program komputer SPSS 15.00 for Windows. Karena data yang diperoleh merupakan data ordinal, dilakukan uji non parametrik Kruskal Wallis. Bila ada perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$.

HASIL

Pada penelitian ini ditemukan adanya perubahan struktur histopatologis hepatosit pada tikus berupa sebaran sel radang di sekitar daerah porta, beberapa nekrosis fokal intralobulus, dan sedikit nekrosis periportal. Juga ditemukan adanya ekstrasvasasi darah dalam lobulus dan sinusoid hati, perluasan jaringan ikat portal, serta pelebaran vena sentralis, namun ketiga hal tersebut tidak dimasukkan ke dalam perhitungan derajat kerusakan hati.

Perhitungan skor HAI Knodell dilakukan pada semua kelompok kecuali kelompok P3, karena pada kelompok ini hanya 1 ekor tikus yang dapat bertahan hidup sampai waktu terminasi sehingga tidak memenuhi kriteria besar sampel.

Hasil perhitungan total skor HAI Knodell pada keempat kelompok adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil perhitungan skor HAI Knodell pada keempat kelompok

	Mean	SD	Max	Min
K1	0,8	1,789	4	0
K2	6,0	3,000	10	3
P1	3,2	1,095	5	2
P2	4,6	1,673	7	3

Dari hasil perhitungan tersebut dibuat histogram rerata skor HAI Knodell pada semua kelompok:

Tampak rerata total skor HAI Knodell meningkat pada K2. Pada P1 rerata total skor kembali menurun, tetapi belum sampai kembali ke K1. Pada P2 rerata total skor meningkat kembali, tetapi tidak setinggi K2.

Kemudian dilakukan uji non parametrik Kruskal Wallis karena data tersebut merupakan data ordinal. Hasilnya didapatkan nilai $p = 0,025$ ($p < 0,05$),

artinya terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada tiap-tiap kelompok.

Analisa dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk menilai perbandingan antar kelompok. Hasilnya didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 dan K2, serta kelompok K1 dan P2 ($p = 0,023$). Sedangkan antara kelompok K2 dan P1 ($0,094$), K2 dan P2 ($0,443$), P1 dan P2 ($0,142$), serta K1 dan P1 ($0,063$) tidak didapatkan perbedaan bermakna.

Tabel 2. Hasil uji Mann-Whitney

	K1	K2	P1	P2
K1		0,023*	0,063	0,023*
K2	0,023*		0,094	0,443
P1	0,063	0,094		0,142
P2	0,023*	0,443	0,142	

PEMBAHASAN

Dikatakan bahwa perubahan histopatologis hati akibat pemberian metotreksat terjadi secara bertahap, sesuai durasi pemakaian dan berbanding terbalik dengan interval antara dosis satu ke dosis berikutnya.¹² Perubahan tersebut bervariasi, dapat berupa perlemakan, *balooning degeneration*, nekrosis, perubahan nuklear (anisonukleosis), kolestasis, hiperplasi sel Ito, inflamasi portal, fibrosis progresif, sampai sirosis.^{12,13} Pada penelitian ini perubahan yang ditemukan yaitu inflamasi portal, nekrosis periportal, dan beberapa nekrosis fokal intalobulus. Tidak ditemukannya perlemakan dapat disebabkan proses tersebut

biasanya dimulai dari daerah sentral sebagai daerah yang paling jauh dari arteri,¹⁴ sedangkan perubahan akibat metotreksat dimulai dari daerah perifer.¹⁵ Penelitian lain terhadap hati tikus albino jantan yang diberi metotreksat menunjukkan hasil yang hampir sama dengan penelitian ini, yaitu terjadi perubahan secara gradual dan progresif terutama pada traktus porta dan daerah perifer lobulus setelah diinjeksi metotreksat selama 3 dan 6 minggu. Perubahan tersebut berlanjut ke daerah sentral setelah 9 minggu.¹⁵

Perubahan nekroinflamasi akibat pemberian akut metotreksat pada penelitian ini bermakna secara statistik, yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan skor HAI Knodell yang bermakna antara K1 yang merupakan kelompok kontrol tanpa perlakuan dengan K2 sebagai kelompok kontrol yang hanya diberi metotreksat. Meskipun bermakna secara statistik, perubahan tersebut baru berupa perubahan nekroinflamasi. Belum terdapat fibrosis maupun sirosis yang merupakan efek samping utama metotreksat terhadap hati. Biasanya fibrosis terjadi setelah pemberian metotreksat dalam durasi yang panjang sehingga terjadi akumulasi metotreksat di hati, misalnya pada pengobatan psoriasis dan artritis reumatoid.¹³ Mekanisme terjadinya perubahan ini belum diketahui secara pasti.¹³

Kelompok P1 yang mendapat *Nigella sativa* dosis terendah menunjukkan penurunan skor HAI Knodell secara tidak bermakna dibandingkan K2 ($p=0,094$). Ini menunjukkan penurunan skor HAI Knodell yang terjadi lebih disebabkan faktor kebetulan dan belum dapat diterima.¹⁶

Sedangkan pada kelompok P2 yang mendapat *Nigella sativa* dengan dosis yang lazim dikonsumsi masyarakat setelah dikonversi ke dosis tikus,¹⁰ skor HAI

Knodell justru kembali meningkat dibanding pada P1 meskipun masih lebih rendah dibanding K2. Ini menunjukkan bahwa *Nigella sativa* dosis 0,08 ml juga tidak efektif dalam mengurangi kerusakan hati akibat pengaruh metotreksat.

Pada kelompok P3 didapatkan lima dari enam tikus mati. Diperkirakan penyebab kematian tikus adalah terlalu tingginya dosis *Nigella sativa* yang digunakan, yaitu sepuluh kali lebih tinggi dari dosis lazim. Tikus kelompok ini tampak kurus, dan terlihat perdarahan yang terus-menerus dari mukosa hidung, mulut, serta ujung-ujung ekstremitas yang dapat disebabkan oleh salah satu efek toksik *Nigella sativa* yaitu penurunan jumlah trombosit tikus.¹⁷

Tidak adanya penurunan skor HAI Knodell yang bermakna pada semua kelompok menunjukkan bahwa efek anti hepatotoksik *Nigella sativa* dosis 0,008 ml maupun 0,08 ml terhadap kerusakan hati akibat pemberian akut metotreksat tidak terbukti pada penelitian ini. Tetapi penelitian ini baru mempelajari efek *Nigella sativa* terhadap kerusakan nekroinflamasi hati pada pemberian metotreksat akut. Efek *Nigella sativa* terhadap fibrosis yang merupakan efek samping utama metotreksat terhadap hati belum diketahui. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa efek anti hepatotoksik *Nigella sativa* terjadi melalui efek anti oksidan *thymoquinone* dan *dehydrothymoquinone*.¹⁸ Secara umum fibrosis hati disebabkan oleh aktivitas fibrogenik sel Ito atau sel *stellate*, yang dipacu oleh adanya stres oksidatif.¹⁹ Walaupun belum jelas hubungannya dengan pemberian metotreksat, efek anti oksidan *thymoquinone* dalam *Nigella sativa* tadi mungkin dapat mengurangi aktivitas fibrogenik sel Ito akibat adanya stres oksidatif, sehingga dapat menghambat fibrosis. Karena itu penelitian lebih

lanjut untuk mempelajari efek *Nigella sativa* dalam mencegah terjadinya fibrosis pada pemberian metotreksat secara kronik masih diperlukan.

KESIMPULAN

Nigella sativa pada dosis 0,008 ml maupun 0,08 ml tidak dapat menurunkan derajat kerusakan hati akibat pemberian akut metotreksat secara bermakna.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mencari dosis *Nigella sativa* yang dapat mengurangi kerusakan hati akut akibat pemberian metotreksat secara bermakna tetapi belum mencapai dosis toksik, dengan jumlah sampel yang lebih besar dan rentang antar dosis yang lebih pendek.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek *Nigella sativa* terhadap kerusakan hati kronik akibat pemberian metotreksat yang berupa fibrosis, dengan jangka waktu pemberian yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek *Nigella sativa* sendiri terhadap gambaran histopatologis sel hati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang dengan rahmat-Nya penelitian ini dapat terlaksana. Penulis juga menghaturkan rasa terima kasih kepada dr. Budhi Surastri selaku dosen pembimbing; dr. RB. Bambang Witjahjo, M.Kes selaku reviewer proposal dan ketua penguji; Dr. Henna Rya Sunoko, Apt, MES selaku penguji artikel; serta dr. Kasno, Sp PA selaku konsultan pembacaan preparat. Rasa terima kasih juga penulis tujukan kepada pihak pengelola Laboratorium Fakultas Farmasi UGM, Laboratorium Parasitologi FK UNDIP, Laboratorium Patologi Anatomi RSDK dan FK UNDIP, Laboratorium Sentral FK UNDIP, teman-teman kelompok farmakologi, juga kepada kedua orang tua dan seluruh keluarga atas segala dukungan dan doanya, serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu hingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

1. Goodman GA, Theodore WR, Alan SN, Palmer T. Goodman and Gilman Pharmacology the Basic of Therapeutics, 11th edition. Mc Graw-Hill International Edition, 2005: 1633 – 1640
2. Bayupurnama P. Hepatotoksisitas Imbas Obat. In: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata MK, Setiati S, editors. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1, edisi ke-4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 473 – 476
3. Amirudin R. Fisiologi dan Biokimia Hati. In: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata MK, Setiati S, editors. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1, edisi ke-4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 417 – 421
4. Katzer G. Spice Pages: Onion Seeds (*Nigella sativa*, falsely Black Cumin or Black Caraway). Available from URL: HYPERLINK www.uni-graz.at. Cited on: 2006 Dec 07
5. Anonym. The Seed of Blessing. Available from URL: HYPERLINK www.blackseedusa.com. Cited on: 2006 Dec 07
6. Anonym. Habbatus Sauda' (Black Seed). Available from URL: HYPERLINK www.mykedai.net. Cited on: 2007 Jan 03
7. Al-Ghamdi MS. Protective Effect of *Nigella sativa* Seeds Against Carbon Tetrachloride-induced Liver Damage. Available from URL: HYPERLINK www.pubmed.gov. cited on: 2006 Oct 15
8. Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The Effect of *Nigella sativa* Oil against the Liver Damage Induced by *Schistosoma mansoni* in Mice. Available from URL: HYPERLINK http://www.sciencedirect.com/science?_ob=HomePage. Cited on: 2006 Oct 15
9. Tan HT, Rahardja K. Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya, edisi ke-5. Jakarta: PT Elex Media Komputindo, 2002: 208

10. Hendrik. Habbatus sauda' dalam Menangani Berbagai Penyakit dan Kesehatan Tubuh. Jawa Tengah: Pustaka Umat, 2005: 113
11. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1(5):431-5.
12. Orfei E. Drug-Induced Liver Injury. Available from URL: HYPERLINK www.meddean.luc.edu/lumen/MedEd/orfpath/li-8-4. Cited on: 2007 Apr 20
13. Kremer JM. Methotrexate-induced hepatotoxicity. Available from URL: HYPERLINK patients.uptodate.com/topic.asp. Cited on: 2007 July 11
14. Kasno, Prasetyo A. Patologi Hati dan Saluran Empedu Ekstra Hepatik. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro, 2005
15. Al-Motabagani MA. Histological and Histochemical Studies on the Effects of Methotrexate on the Liver of Adult Male Albino Rat. Available from URL: HYPERLINK www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071795022006000400020&script=arttex. Cited on: 2007 June 08
16. Budiarto E. Biostatistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat, edisi ke-2. Jakarta: EGC, 2001: 178 – 188
17. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M. Acute and Chronic Toxicity of *Nigella sativa* Fixed Oil. Available from URL: HYPERLINK www.cat.inst.fr. Cited on: 2007 June 26
18. Nagi MN, Alam K, Badary OA, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Bekairi AM. Thymoquinone Protects Against Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity in Mice Via an Antioxidant Mechanism. Available from URL: HYPERLINK <http://taylorandfrancis.metapress.com/>. Cited on: 2006 Oct 15
19. Friedman SL. Mechanism of Hepatic Fibrosis and Therapeutic Implications. Available from URL: HYPERLINK www.medscape.com/viewarticle/495340. Cited on: 2007 July 20

Lampiran 1

Damage Score for Liver Biopsy

HISTOLOGY ACTIVITY INDEX (HAI - Knodell Score)						
Periportal ± Bridging Necrosis	Score	Intralobular Degeneration and Focal Necrosis	Score	Portal Inflammation	Score	Fibrosis
None	0	None	0	No portal inflammation	0	No fibrosis
Mild	1	Mild (1/3 of lobules or nodules)	1	Mild (inflammatory cells in 1/3 portal tracts)	1	Fibrous portal expansion
Moderate (in 50% circumference of most portal tracts)	3	Moderate (1/3- 2/3 of lobules or nodules)	3	Moderate (inflammatory cells in 1/3- 2/3 portal tracts)	3	Bridging Fibrosis (portal- portal or portal- central linkage)
Marked (in 50% circumference of most portal tracts)	4	Marked (in 2/3 of lobules or nodules)	4	Marked (inflammatory cells in 2/3 of portal tracts)	4	Cirrhosis
3 <i>plus</i> bridging necrosis	5	Reference Knodell RG, et al.				
4 <i>plus</i> bridging necrosis	6					
Multilobular necrosis	10					

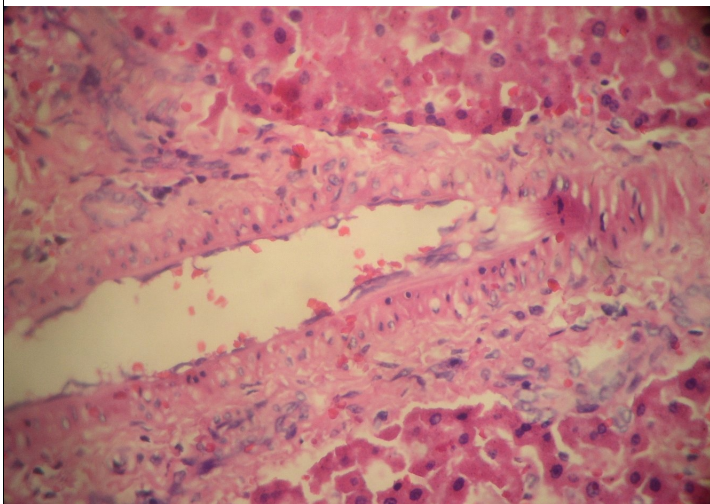
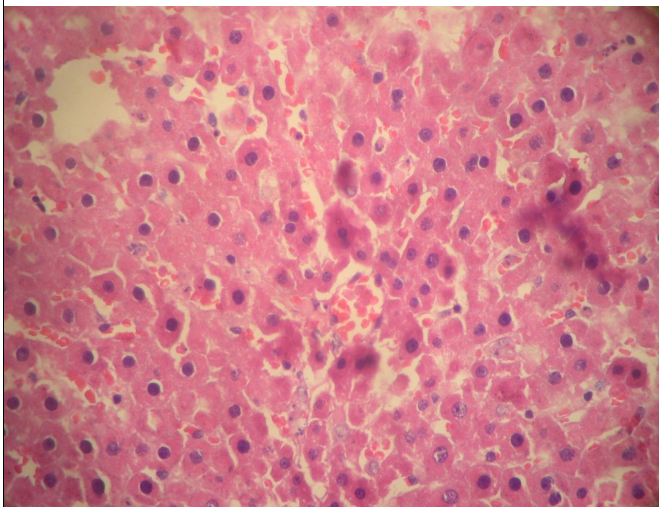
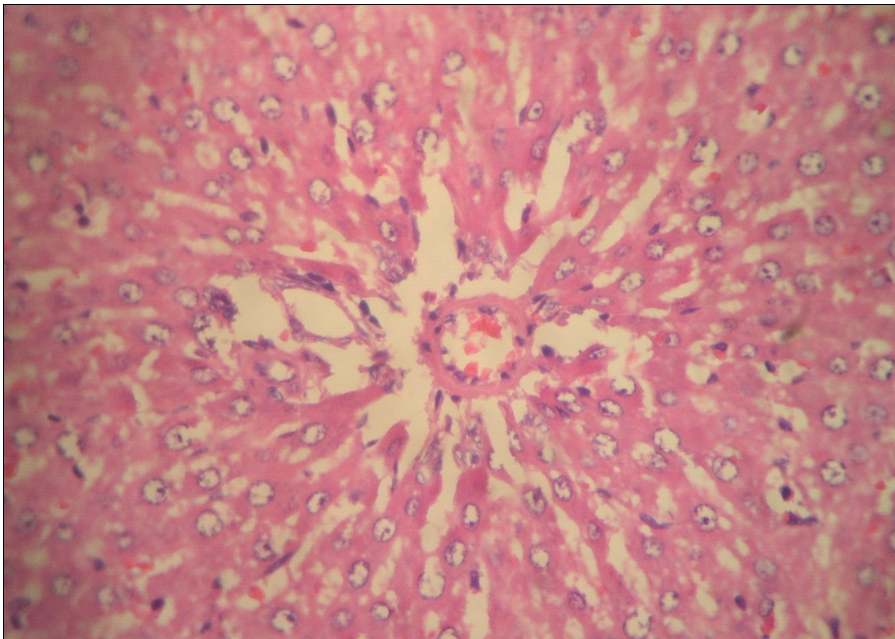
Lampiran 2

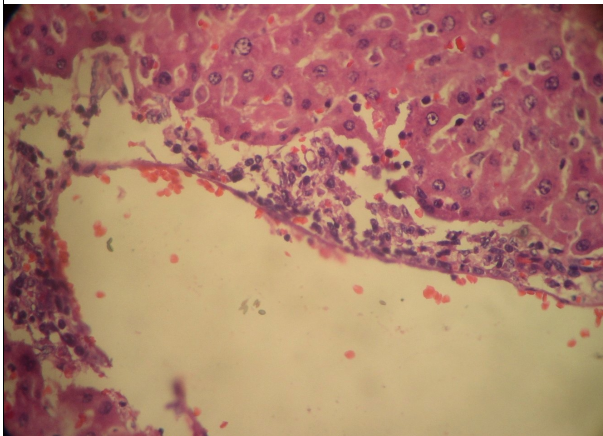
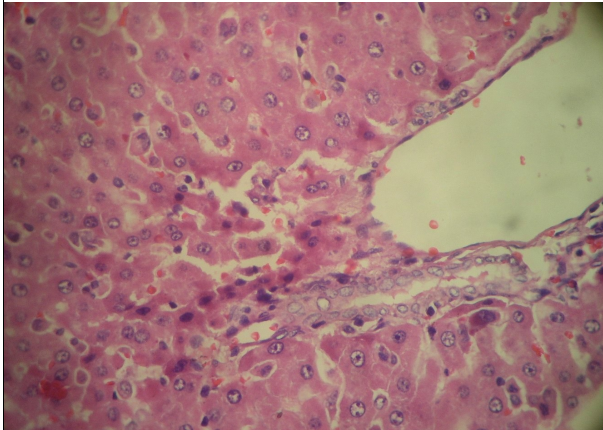
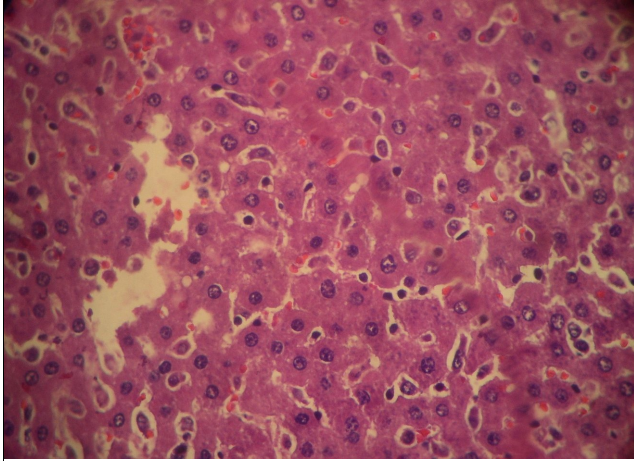
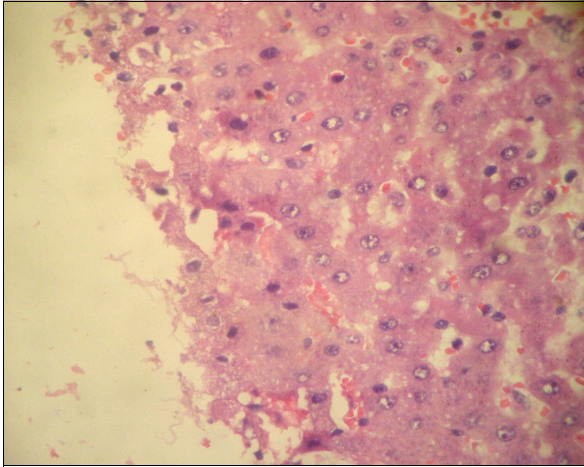
Hasil Perhitungan skor HAI Knodell

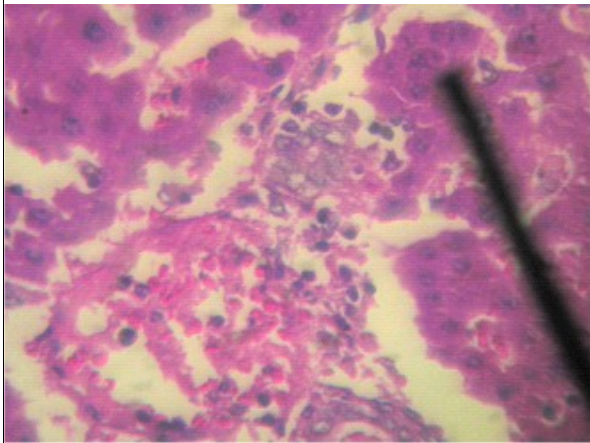
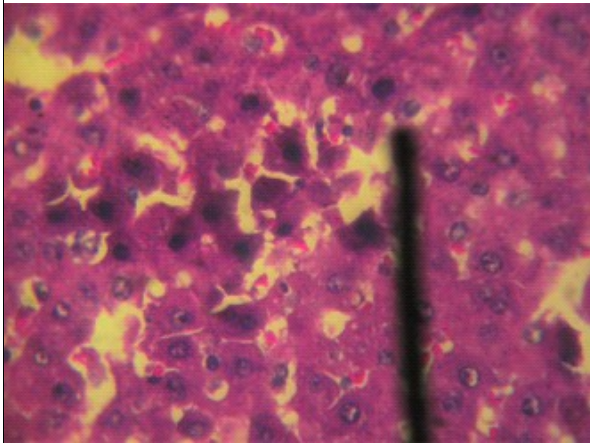
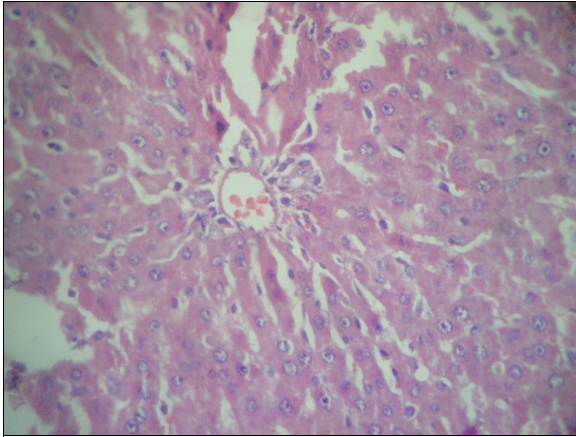
	Periportal ± Bridging Necrosis	Intralobular Degeneration and Focal Necrosis	Portal Inflammation	Fibrosis	Total
K 1.1	1 (Ringan)	0 (tidak ada)	3 (> 1/3portal)	0 (tidak ada)	4
K 1.2	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0
K 1.3	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0
K 1.4	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0
K 1.5	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	0
K 2.1	1 (Ringan)	3 (> 1/3lobulus)	3 (> 1/3portal)	0 (tidak ada)	7
K 2.2	3 (Sedang)	3 (> 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	7
K 2.3	3 (Sedang)	4 (> 2/3lobulus)	3 (> 1/3portal)	0 (tidak ada)	10
K 2.4	1 (Ringan)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	3
K 2.5	1 (Ringan)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	3
P 1.1	1 (Ringan)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	3
P 1.2	1 (Ringan)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	3
P 1.3	1 (Ringan)	3 (> 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	5
P 1.4	0 (tidak ada)	3 (> 1/3lobulus)	0 (tidak ada)	0 (tidak ada)	3
P 1.5	0 (tidak ada)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	2
P 2.1	1 (Ringan)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	3
P 2.2	1 (Ringan)	3 (> 1/3lobulus)	3 (> 1/3portal)	0 (tidak ada)	7
P 2.3	1 (Ringan)	1 (< 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	3
P 2.4	1 (Ringan)	3 (> 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	5
P 2.5	1 (Ringan)	3 (> 1/3lobulus)	1 (< 1/3portal)	0 (tidak ada)	5

Lampiran 3

Gambaran Preparat







Lampiran 4

Output SPSS

Kelompok

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Total score	K1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	K2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Descriptives

Total score

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	5	.80	1.789	.800	-1.42	3.02	0	4
K2	5	6.00	3.000	1.342	2.28	9.72	3	10
P1	5	3.20	1.095	.490	1.84	4.56	2	5
P2	5	4.60	1.673	.748	2.52	6.68	3	7
Total	20	3.65	2.700	.604	2.39	4.91	0	10

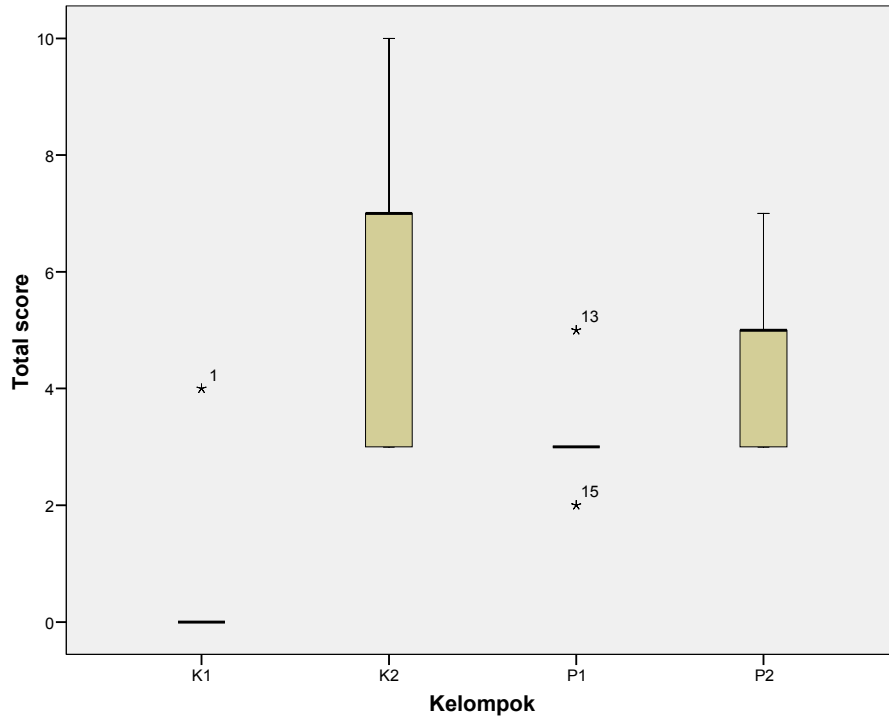
Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Total score	K1	.473	5	.001	.552	5	.000
	K2	.241	5	.200*	.877	5	.295
	P1	.372	5	.022	.828	5	.135
	P2	.231	5	.200*	.881	5	.314

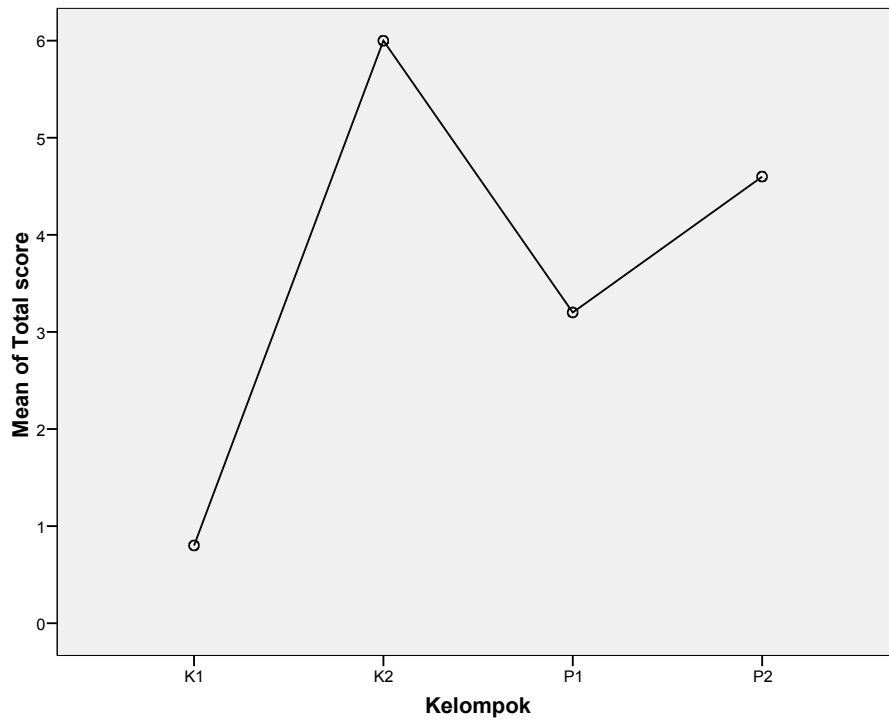
*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Total score



Means Plots



NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Total score	K1	5	4.60
	K2	5	14.80
	P1	5	9.40
	P2	5	13.20
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	Total score
Chi-Square	9.349
df	3
Asymp. Sig.	.025

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total score	K1	5	3.40	17.00
	K2	5	7.60	38.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total score
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.278
Asymp. Sig. (2-tailed)	.023
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total score	K1	5	3.80	19.00
	P1	5	7.20	36.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total score
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.856
Asymp. Sig. (2-tailed)	.063
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total score	K1	5	3.40	17.00
	P2	5	7.60	38.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total score
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.278
Asymp. Sig. (2-tailed)	.023
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total score	K2	5	7.00	35.00
	P1	5	4.00	20.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total score
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.677
Asymp. Sig. (2-tailed)	.094
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total score	K2	5	6.20	31.00
	P2	5	4.80	24.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total score
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.767
Asymp. Sig. (2-tailed)	.443
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total score	P1	5	4.20	21.00
	P2	5	6.80	34.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total score
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.469
Asymp. Sig. (2-tailed)	.142
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok