

GAMBARAN JUMLAH DAN HITUNG JENIS LEUKOSIT SERTA WAKTU JENDAL DARAH PADA TIKUS BETINA YANG DIINDUKSI 7,12-Dimetilbenz(α)antrasen (DMBA) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* L)
The number of total leucocyte and coagulation time on DMBA-induced tumor in female rats by *Nigella sativa* L. seeds ethanolic extract

Akrom, Ermawati MI.

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Jend. A. Yani Pabelan Kartasura, Solo 57102 Jawa Tengah

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan jenis kanker di urutan kedua yang diderita wanita Indonesia setelah kanker serviks. Sistem imunitas dapat mempengaruhi perkembangan penyakit kanker. Kondisi imunitas tercapai dengan baik melalui peningkatan waktu koagulasi dan leukosit total. Salah satu tumbuhan dengan khasiat imunomodulator adalah biji *Nigella sativa* L. (jinten hitam). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek biji jinten hitam terhadap waktu koagulasi serta leukosit total dan diferensiasinya pada tikus betina *Sprague Dawley* yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz(α)antrasen (DMBA). Tikus dibagi 6 kelompok, masing-masing terdiri 6 ekor. Kelompok I sebagai kontrol negatif, diberikan DMBA 2 kali seminggu dosis 20 mg/kg BB dalam minyak jagung selama 5 minggu. Kelompok II sebagai kontrol pelarut, diberikan hanya minyak jagung dengan dosis dan cara yang sama dengan kelompok I. Kelompok III, IV dan V adalah kelompok perlakuan ekstrak etanol biji jinten hitam berturut-turut sebesar 5, 25, dan 125 mg/kg bb selama 7 minggu. Kelompok VI sebagai kontrol positif, diberikan *Imboost*[®] selama 7 minggu. Kelompok II-VI diberikan DMBA dengan dosis, frekuensi, dan cara yang sama dengan kelompok I. Pada minggu ke-16 darah diambil dari sinus orbitalis. Parameter penelitian ini adalah waktu koagulasi, leukosit total yang ditentukan dengan metode “*manual direct*”, serta leukosit diferensial dengan metode “*differential counter cell*”. Analisa statistik menunjukkan pemberian DMBA dapat meningkatkan monosit total tapi tidak berpengaruh pada eosinofil. Pita neutrofil dan basofil tidak ditemukan dalam penelitian ini. Perlakuan ekstrak etanol semua dosis dapat meningkatkan level limfosit total. Ekstrak dosis 5 dan 125 mg/kg bb meningkatkan waktu koagulasi, sedangkan dosis 25 mg/kg bb tidak berpengaruh terhadap waktu koagulasi.

Kata kunci: *Nigella sativa* L., leukosit, waktu koagulasi, DMBA

ABSTRACT

*Breast cancer is the second most common female cancer in Indonesia, after the cervical cancer. Immunity can be affected the growth of cancer and reached by increasing the coagulation and total leucocyte. One of the natural imunomodulator is *Nigella sativa* seeds. The research aimed to identify the effect of *Nigella sativa* to coagulation time, total and differential leucocyte of *Sprague Dawley* female rats induced 7,12-dimetilbenz(α)anthracena (DMBA). The rats divided into 6 groups, each consisted of 6 rats. Group I administered DMBA in corn oil 20 mg/kg bw 10 times (2 times a week during 5 weeks). Group II administered corn oil equal to Group I. Group VI administered *Imboost*[®] everyday during 7 weeks. Group III, IV and V administered ethanolic extract of *N. sativa* 5, 25 and 125 mg/kg bw during 7 weeks. Group III-V were induced by DMBA. At 16th week, the blood taken trough orbitalic sinus. The parameters of this research are the coagulation time, total and differential leukocyte. For assessing*

count of total leucocyte was used "manual direct" method, and for the differential leucocyte was used Differential counter cell method. The results showed ethanolic extract dose 5 mg/kg bw, 25 mg/kg bw, 125 mg/kg bw increase the total lymphocyte, DMBA increase the total monocyte and all of the dose group do not effect to the eosinophyl. Neutrophil band and basophyl do not find. Ethanolic extract dose 5 mg/kg bw and 125 mg/kg bw can increase the coagulation time, but not at dose 25 mg/kg bw.

Key words: *Nigella sativa*, leucocyte, coagulation time, DMBA

PENDAHULUAN

Senyawa hidrokarbon alifatik DMBA merupakan karsinogen untuk kanker payudara dan bersifat imunotoksik. Sampai saat ini kanker payudara merupakan tumor ganas yang menduduki peringkat ke-2 setelah kanker rahim diantara kanker yang menyerang wanita di Indonesia. Paparan karsinogen dari senyawa hidrokarbon alifatik pada masyarakat Indonesia semakin meningkat oleh karena semakin meningkatnya teknologi transportasi bermotor dengan asapnya yang mencemari udara pernafasan terutama di jalan-jalan raya, asap rokok dan produk-produk makanan olahan sehingga risiko masyarakat untuk mengalami kanker payudara akibat pencemaran lingkungan juga meningkat.

Pada dasarnya kanker merupakan penyakit genetik yang berhubungan dengan perubahan di dalam sel yang diakibatkan berbagai macam pengaruh terutama dari lingkungan yang meliputi virus, senyawa kimia dan fisik (paparan UV). Sel-sel abnormal yang dikenal dengan kanker ini selalu berpindah melalui jaringan tempat mereka berada (Anonim, 2006).

Leukosit atau sel darah putih mempunyai fungsi utama dalam sistem pertahanan. Untuk mengungkapkan keadaan kesehatan tubuh melalui sel-sel leukosit perlu diperhatikan mengenai jumlah dan morfologinya (Subowo,

1993). Batas normal sel darah putih berkisar dari 4.000 sampai 10.000/ mm³ (Wilson, 2002). Pada penderita kanker payudara ada peningkatan jumlah sel darah putih karena sel kanker merupakan suatu sel yang mengalami mutasi sehingga oleh sistem imun akan dianggap sebagai benda asing. Hal ini akan memicu terjadinya respon imun yang diperantarai terutama oleh sel limfosit T dan limfosit T juga akan memicu respon imun limfosit B yang akan menghasilkan antibodi (Baratawidjaja, 2006). Dengan adanya sel kanker maka darah akan mudah membeku (Widyawati dkk., 2004).

Berdasarkan potensi biji jinten hitam sebagai kemopreventif penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas biji jinten hitam terhadap sel kanker dengan menghitung jumlah sel darah putih, hitung jenis serta waktu jendal darah pada tikus betina *Sprague Dawley* yang diinduksi 7,12 dimetilbenz(α)antrasen (DMBA).

METODE PENELITIAN

Bahan

Biji jinten, etanol 96%, DMBA, Imboost sirup dari Soho, Aspirin dari Bayer, *corn oil* (Tropicana), EDTA, reagen *turk*, minyak emersi, giemsa 10%, methanol dan akuades. Hewan uji tikus putih betina galur *Sprague Dawley*.

Alat

Alat-alat gelas, oven, panci maserasi,

corong *Buchner*, labu hisap, *rotaevaporator*, kipas angin, penangas air, kertas saring, plastik, blender, timbangan analitik, gelas ukur, termometer, batang pengaduk dari kaca. Untuk jumlah dan hitung jenis leukosit serta waktu jendal darah adalah ependorf, pipa kapiler, mikroskop cahaya, mikropipet, *object glass*, bilik hitung, *stopwatch* dan jarum.

Cara Kerja

Identifikasi biji N. sativa Linn dan pembuatan ekstrak biji jinten hitam

Jinten hitam yang diperoleh dari Toko Jamu Dami Semarang, Jawa Tengah yang bernama latin *N. sativa* Linn diidentifikasi di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta

Ekstrak etanol biji jinten hitam dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan cara biji jinten hitam yang telah dibersihkan, diblender dan dikeringkan dalam almari pengering suhu 50°C selama 24 jam. Tiga kg serbuk biji jinten hitam ditambah 5 L etanol 96%, direndam selama 24 jam kemudian disaring dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator*, pemanas *water bath* suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental.

Variasi dosis ekstrak etanol *N. sativa* L. yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 mg/kg bb, 5 mg/kg bb, 25 mg/kg bb, 125 mg/kg bb. Pelarut yang digunakan adalah *corn oil*.

Pemberian Ekstrak Etanol Biji jinten hitam dan Induksi karsinogenesis dengan DMBA pada hewan uji

Tikus betina berumur 1 bulan dibagi menjadi 6 kelompok secara random. Kelompok

I: merupakan kelompok kontrol negatif yang diberi DMBA dalam minyak jagung dengan dosis 20 mg/kg bb secara peroral sebanyak 10 kali yaitu seminggu 2 kali selama 5 minggu pada umur 1,5 bulan. Selama 14 hari sebelumnya tikus hanya mendapat pakan kontrol. Kelompok II: merupakan kelompok kontrol pelarut dengan menggunakan minyak jagung. Minyak jagung diberikan 10 kali yaitu seminggu 2 kali selama 5 minggu pada tikus umur 1,5 bulan. Empat belas hari sebelumnya tikus hanya mendapat pakan kontrol. Kelompok VI: merupakan kelompok kontrol positif dengan menggunakan Imboost® dengan dosis sesuai dosis anjuran. Kelompok III: diberi ekstrak etanol biji jinten hitam 5 mg/kg bb. Kelompok IV: diberi ekstrak etanol biji jinten hitam 25 mg/kg bb. Kelompok V: diberi ekstrak etanol biji jinten hitam 125 mg/kg bb.

Pada kelompok perlakuan diberi ekstrak etanol biji jinten hitam dengan dosis tertentu setiap hari selama 14 hari sebelum inisiasi (pemberian DMBA) dan selama inisiasi sehingga jumlah keseluruhan pemberian ekstrak etanol adalah 7 minggu. Dosis dan cara pemberian DMBA sama dengan kelompok kontrol positif.

Setelah pemberian DMBA yang terakhir semua tikus diberi pakan kontrol saja hingga akhir pengamatan. Tikus ditimbang setiap minggunya untuk mengetahui perkembangan berat badannya dan mulai minggu ke-1 setelah pemberian DMBA terakhir dilakukan palpasi payudara setiap minggu untuk mengamati perkembangan tumor hingga akhir pengamatan. Induksi karsinogenesis dengan DMBA dan perlakuan dengan ekstrak etanol biji jinten hitam.

Uji waktu jendal darah

Sampel sebanyak 1 tetes, diteteskan pada obyek glass. Penghitungan waktu jendal darah dimulai segera setelah darah diteteskan pada obyek glass. Darah ditusuk dengan jarum setiap interval waktu 3 atau 4 detik sampai darah mulai membeku yang ditandai dengan adanya benang fibrin yang melekat pada jarum. Jadi, waktu jendal darah adalah rentang waktu antara saat penetesan sampel darah sampai timbulnya benang fibrin.

Uji jumlah total dan hitung jenis leukosit

Uji waktu jendal darah dilakukan sebagaimana prosedur sebelumnya. Sampel darah sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam pipet leukosit standar dengan tanda "11". *Reagen Tuck* (untuk melisis eritrosit) ditambahkan sampai tanda "11". Pipet dibolak-balikkan selama kurang lebih 3 menit agar darah dan reagen bercampur dengan baik. Larutan dalam pipet dibuang sebanyak 2 atau 3 tetes. Sisanya diteteskan di kamar hitung (*accounting chamber*), kemudian dibiarkan selama 1 menit agar sel-sel merata ke seluruh arena, diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lemah (10 kali), kemudian dihitung total leukosit yang berada dalam 4 kotak besar. Leukosit tampak seperti bercak-bercak hitam. Rumus jumlah leukosit per μm adalah: sel-sel yang terhitung $\times 20$ (1:20) $\times 10$ (0,1mm) : 4 (jumlah kotak dalam μm^2) atau jumlah sel yang terhitung dalam kotak dikalikan 50 (Benjamin, 1979). Penghitungan dilakukan oleh Laboran Patologi Klinik Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Uji hitung jenis leukosit dilakukan sebagaimana prosedur sebelumnya. Sampel

sebanyak 1 tetes diteteskan ke obyek glass, sampel dibuat preparat apus, difiksasi dengan metanol, kemudian dicat dengan Giemsa 10%, didiamkan selama 30 menit, lalu dibilas dengan akuades, setelah kering diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Preparat ditetesi minyak emersi untuk memperjelas pengamatan. Cara menghitung jumlah absolut masing-masing jenis leukosit adalah dengan mengalikan persentase jumlah masing-masing jenis leukosit dengan total leukosit. Penghitungan dilakukan oleh Laboran Patologi Klinik Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Analisis Data

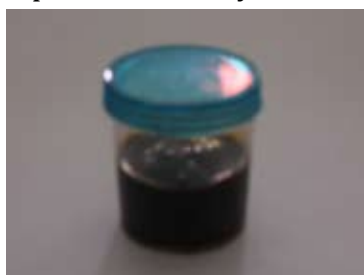
Data dianalisis dengan uji normalitas dan homogenitas data dengan taraf kepercayaan 95%. Uji normalitas dengan uji Kolmogorof-Smirnov dan uji homogenitas dengan uji Levene, dilanjutkan dengan uji LSD jika data parametrik, tapi jika data non parametrik maka dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi ini dilakukan untuk meyakinkan bahwa bahan uji yang digunakan adalah benar-benar biji jinten hitam sehingga menghindari kesalahan dalam pengambilan biji jinten hitam dan menjaga kemurnian bahan dari tercampurnya dengan jenis biji lainnya. Identifikasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa biji jinten hitam yang digunakan untuk penelitian benar-benar biji *N. sativa* dibuktikan dengan surat keterangan hasil identifikasi biji jinten hitam

dari Lab. Biologi Farmasi UGM.

Ekstraksi biji jinten hitam dilakukan dengan menggunakan metode maserasi pengadukan bertingkat. Larutan penyari yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96% sehingga diharapkan kandungan zat aktif yang bersifat semipolar lebih banyak tersari.



Gambar 1. Ekstrak biji jintan hitam

Pengaruh induksi DMBA dengan dosis 20 mg/kg BB sebanyak 10 kali dalam jangka waktu 5 minggu diamati pada minggu ke-16 terhitung dari awal mulai perlakuan. Hasil pemeriksaan mikroskopis atau histopatologi jaringan mammae tikus SD yang diinduksi DMBA nampak pada Tabel 1.

Tabel 1. Gambaran Histopatologis organ mammae

Kelompok hewan uji	Gambaran jenis tumor mammae hasil pemeriksaan histopatologi jaringan mammae	
	adenokarsinoma In situ	Adenokarsinoma - adenokarsinoma invasive
kontrol normal	0	0
Kelompok kontrol negatif	0	100%
Kel 5 mg/kg bb	50%	50%
Kel 25 mg/kg bb	33%	67%
Kel 125 mg/kg bb	33%	67%
Kel kontrol positif	50%	50%

Secara mikroskopis, sel-sel glandula mammae payudara tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan gambaran normal, yaitu ditemukan hanya satu atau dua lapis sel epitel asinus atau duktus. Sedangkan pada tikus yang terkena tumor akan terlihat lebih padat pada jaringan ikat karena terdesak sel tumor yang membesar. Inti karsinoma mammae berbeda-beda yang menunjukkan tingkat keparahan (*grade*).

Pada penelitian ini, ada beberapa tikus dari kelompok kontrol positif DMBA yang

terdiagnosa karsinoma mammae, dan pada kelompok kontrol negatif *Corn Oil* tidak ada satupun tikus yang terdiagnosa positif karsinoma mammae. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan berbagai dosis ekstrak *N. sativa* ada yang terindikasi tumor dan ada yang menunjukkan gambaran normal. Hal ini berarti bahwa pada dosis tertentu ekstrak *N. sativa* dapat berperan sebagai *chemopreventive agent*.

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *sinus orbitalis* tikus putih *Sprague Dawley* dengan menggunakan tabung hematokrit. Darah

yang terambil ditampung di Ependorf yang sebelumnya telah dibersihkan dan diberi EDTA. Penambahan EDTA bertujuan untuk mencegah penjendalan atau dengan kata lain berfungsi sebagai antikoagulan.

Jumlah leukosit tikus galur *Sprague Dawley* normal menurut *Schalm's veterinary hematology* (Jain, 1986) adalah $9,810 \pm 1,789$. Hasil perhitungan rata-rata jumlah leukosit (ribu/mm³) pada minggu ke-16 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata (\pm SD) Jumlah Leukosit total tikus SD yang diinduksi DMBA setelah pemberian ekstrak etanol berbagai dosis selama 14 hari

Kelompok perlakuan	Jumlah leukosit ribu/mm ³ ($\bar{x} \pm SD$)
Kontrol pelarut corn oil	4,250 \pm 0,250
Kontrol negatif DMBA	4,550 \pm 0,150
EEJH 5 mg /kg bb	7,275 \pm 0,025
EEJH 25 mg /kg bb	9,125 \pm 0,825
EEJH 125 mg /kg bb	4,850 \pm 0,050
Kontrol positif imboost Normal	4,133 \pm 0,333

Kenaikan nilai leukosit dibandingkan kontrol positif disebabkan karena pada semua perlakuan terinduksi oleh karsinogenik sehingga jumlah leukositnya meningkat untuk melawan benda asing tersebut. Oleh karena itu untuk melihat patologis yang lebih spesifik dapat dilihat dari analisa hitung jenis leukosit.

Neutrofil *band* tidak ditemukan dalam sampel darah yang diperiksa karena kebutuhan tubuh akan neutrofil *band* tidak ada. Neutrofil *band* diperlukan apabila tubuh terkena infeksi akut (Hariono, 2005). Menurut *Schalm's veterinary hematology* (Jain, 1986) nilai normal neutrofil segmen adalah $15,4 \pm 4,5\%$. Berdasarkan penelitian ini jumlah segmen mengalami kenaikan yaitu 13-29%. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata dan standar deviasi jumlah neutrofil *segmen* tikus betina galur *Sprague Dawley*

Parameter	Jumlah % neutro- fil segmen ribu/mm ³ ($\bar{x} \pm SD$)	P (signifikasi) terhadap kontrol negatif	P (signifikasi) terhadap kontrol positif
Kontrol negatif DMBA	26,667 \pm 1,528	-	0,005
Kontrol pelarut corn oil	29,000 \pm 1,000	0,020	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 5 mg/kg bb	18,667 \pm 0,557	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 25 mg/kg bb	19,000 \pm 1,000	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 125 mg/kg bb	13,000 \pm 1,000	0,000	0,000
Kontrol positif imboost	23,667 \pm 0,557	0,005	-

Pada semua peringkat dosis rata-rata jumlah neutrofil segmen lebih rendah dibanding kontrol negatif dan positif kecuali pada dosis 1 mg/kg BB dan kontrol pelarut, hal ini disebabkan karena lama waktu induksi sehingga mobilisasi neutrofil untuk menanggapi peradangan terbatas. Neutrofil diperlukan apabila tubuh terkena infeksi akut. Pembebasan neutrofil ini adalah konsekuensi dari adanya rasa nyeri atau neoplasia (Hariono, 2005).

Menurut *Schalms Veterinary Hematology* (Jain, 1986) nilai normal limfosit yaitu $81,3 \pm 5,1\%$. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4. Dari rata-rata jumlah limfosit, dapat diketahui bahwa semakin besar dosis maka rata-rata jumlah limfosit

semakin tinggi, tetapi tidak untuk dosis 5 mg/kg bb. Pada ekstrak etanol *N. sativa* L. dosis 125 mg/kg bb melebihi nilai normal menurut *Schalms* (1986). Namun pada dasarnya semua kelompok perlakuan mengalami kenaikan, dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dapat disebabkan karena waktu penginduksian yang relatif lama sehingga karsinogen yang masuk mempengaruhi limfosit untuk memproduksi sel T lebih banyak. Pada kontrol pelarut tidak berbeda bermakna dibanding kontrol negatif maupun positif. Hal ini menunjukkan bahwa pada kontrol pelarut tidak terjadi peningkatan jumlah limfosit. Diketahui bahwa *N. sativa* dapat meningkatkan jumlah limfosit sel T (Anonim, 2005).

Tabel 4. Rata-rata dan standar deviasi jumlah limfosit tikus betina galur *Sprague Dawley*

Parameter	Jumlah % limfosit ($\bar{x} \pm SD$)	P (signifikasi) terhadap kontrol negatif	P (signifikasi) terhadap kontrol positif
Kontrol negatif DMBA	67,667 ± 0,577	-	0,406
Kontrol pelarut corn oil	66,667 ± 2,517	0,406	0,406
Ekstrak etanol jinten hitam 5 mg/kg bb	76,333 ± 0,557	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 25 mg/kg bb	78,667 ± 1,528	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 125 mg/kg bb	85,667 ± 1,528	0,000	0,000
Kontrol positif imboost	66,667 ± 0,577	0,406	-

Nilai normal monosit menurut *Schalm's Veterinary Hematology* (Jain, 1986) adalah $2,3 \pm 1,6\%$. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 5. Dari rata-rata jumlah monosit dapat diketahui bahwa pada kontrol negatif mempunyai rata-rata jumlah monosit yang melebihi nilai normal dan paling tinggi dari semua perlakuan. Hal ini dikarenakan adanya sel kanker sehingga memicu jumlah monosit sebagai respon sistem imun, namun dari hasil ini jumlah monosit belum bisa dikatakan sebagai parameter

terjadinya kanker karena pada dosis 1 mg/kg BB, dimana dalam penelitian ini mengalami kanker, tidak ada peningkatan rata-rata jumlah monosit yang signifikan. Monosit berperan dalam proses fagositosis (Hariono, 2005). Pada semua dosis ekstrak etanol *N. sativa* mempunyai hasil yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif maupun kontrol positif, sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan ekstrak etanol *N. sativa* dapat menurunkan jumlah monosit dalam darah.

Tabel 5. Rata-rata dan standar deviasi jumlah monosit tikus betina galur *Sprague Dawley*

Parameter	Jumlah % monosit ($\bar{x} \pm SD$)	P (signifikasi) terhadap kontrol negatif	P (signifikasi) terhadap kontrol positif
Kontrol negatif DMBA	13 ± 1	-	0,000
Kontrol pelarut corn oil	5 ± 1	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 5 mg/kg bb	2,67 ± 0,58	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 25 mg/kg bb	3 ± 0	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 125 mg/kg bb	3,33 ± 0,58	0,000	0,000
Kontrol positif imboost	9 ± 1	0,000	-

Nilai normal eosinofil menurut *Schalm's Veterinary Hematology* (Jain, 1986) adalah $1,2 \pm 1,1\%$.

Hasil uji dapat dilihat dalam Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata dan standar deviasi jumlah eosinofil tikus betina galur *Sprague Dawley*

Parameter	Jumlah % eosinofil ($\bar{x} \pm SD$)	P (signifikasi) terhadap kontrol negatif	P (signifikasi) terhadap kontrol positif
Kontrol negatif DMBA	1 ± 0	-	1
Kontrol pelarut corn oil	1,667 ± 0,557	0,114	1
Ekstrak etanol jinten hitam 5 mg/kg bb	1 ± 0	1	1
Ekstrak etanol jinten hitam 25 mg/kg bb	0 ± 0	0,025	0,025
Ekstrak etanol jinten hitam 125 mg/kg bb	1 ± 0	1	1
Kontrol positif imboost	1 ± 0	1	-

Dari rata-rata jumlah eosinofil menunjukkan bahwa setiap peringkat dosis kecuali pada dosis 25 mg/kg bb, mempunyai nilai yang tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol negatif maupun positif sehingga membuktikan bahwa ekstrak etanol *N. sativa* tidak mampu meningkatkan jumlah eosinofil dalam darah atau dapat dikatakan bahwa dapat mempertahankan nilai eosinofil dalam kisaran normal.

Sel basofil tidak ditemukan dalam sampel darah yang diperiksa, sebagaimana pada darah normal umumnya, karena persentase (jumlah) basofil yang sangat kecil dalam darah. Ini membuktikan perlakuan dengan ekstrak etanol *N. sativa* tidak mampu meningkatkan jumlah basofil dalam darah.

Nilai normal waktu jendal darah menurut *Veterinari Clinical Pathology* (Coles, 1974) adalah 18-552 detik. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata dan standar deviasi waktu jendal darah tikus betina galur *Sprague Dawley*

Parameter	Detik jendal darah ($\bar{x} \pm SD$)	P (signifikasi) terhadap kontrol negatif	P (signifikasi) terhadap kontrol positif
Kontrol negatif DMBA	16 ± 0	-	0,000
Kontrol pelarut corn oil	23 ± 0	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 5 mg/kg bb	33 ± 3	0,000	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 25 mg/kg bb	14 ± 0	0,182	0,000
Ekstrak etanol jinten hitam 125 mg/kg bb	21 ± 2,646	0,003	0,001
Kontrol positif imboost	26,667 ± 0,577	0,000	-

Dari rata-rata waktu jendal darah dapat dilihat bahwa ekstrak etanol *N. sativa* dosis 1, 5, dan 125 mg/kg bb dapat meningkatkan waktu jendal darah karena berbeda bermakna dengan kontrol negatif. Ekstrak etanol *N. sativa* dosis 25 mg/kg bb tidak berbeda bermakna dibanding kontrol negatif sehingga tidak mempunyai kemampuan meningkatkan waktu jendal darah.

Nigella sativa memiliki kandungan minyak menguap, asam lemak, kaya akan sterol terutama β -sitosterol, timokuinon, ditimokuinon dan saponin yang berkhasiat sebagai anti tumor (Susilo, 2006; Mangan, 2003). Salah satu mekanismenya yaitu menghambat prostaglandin dari jalur siklooksigenase sehingga tidak terjadi peradangan. Selain itu mekanime lain dapat menghambat agregasi trombosit dari tromboxan sehingga waktu jendal darah semakin meningkat (El Tahrir dan Bakeet, 2006). Penghambatan agregasi trombosit terjadi karena pembentukan zat anti agregasi trombosit, yaitu PGI₂, PGE₁ dan PGD₂. Leukosit sebagai sel pertahanan tubuh mempunyai peranan dalam pembentukan prostaglandin, diantaranya adalah neutrofil dan limfosit yang mensintesis sejumlah kecil prostaglandin (Katzung, 2001). Diantara prostaglandin yang dihasilkan neutrofil sebagai respon peradangan akut dengan ditandai rasa panas dan warna kemerah-merahan yaitu PGE₂ dan PGI₂ yang dapat menghambat agregasi trombosit sehingga waktu jendal darahnya meningkat (Soewarni, 2003; Robbins dan Kumar, 1992). Pemberian ekstrak etanol biji jinten hitam mampu menurunkan jumlah neutrofil yang mengakibatkan produksi COX-2 menurun sehingga respon peradangan juga menurun.

Monosit dan eosinofil selain mensintesis prostaglandin juga mensintesis tromboksan (zat pengagregasi trombosit) dalam kapasitas besar (Katzung, 2001).

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol biji jinten hitam dosis 5, 25, dan 125 mg/kg bb dapat meningkatkan jumlah limfosit pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi DMBA.
2. Ekstrak etanol biji jinten hitam dosis 1, 5, dan 125 mg/kg bb dapat meningkatkan waktu jendal darah pada tikus *Sprague Dawley* yang induksi 7, DMBA.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2006. *Habbatussauda, Islamic Remedy, Legal, Health Tips*, Info Kesehatan, www.sihatbarakah.com, diakses tanggal 24 Februari 2008.
- Baratawidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar*, Edisi 7, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Coles, E.H. 1974. *Veterinari Clinical Pathology*, second edition, W.B Saunders Company Philadelphia, London, Toronto.
- El-Tahrir, KEDH., and Bakeet DM. 2006. The Black Seed *Nigella sativa* Linnaeus-A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of its Volatile Oil, Department of Pharmacology, College of Pharmacy, King Saud University Riyadh Saudi Arabia. *JTU Med Sc*, 1(1):1-19.
- Hariono, B. 1993. *Buku Pedoman Kuliah Patologi Klinik*, Laboratorium Patologi

Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan UGM,
Yogyakarta.

Jain, NC. 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*,
4th Ed, Lea and Febiger, Philadelphia.

Katzung, BG. 2001. *Farmakologi Dasar dan Klinik*,
buku 1, diterjemahkan oleh Dripa Sjabana,
dkk., Salemba Medika.

Mangan, Y. 2003. *Cara Bijak Menaklukkan Kanker*,
AgroMedia Pustaka, Jakarta.

Mansoer, S. 2003. *Mekanisme Kerja Obat
Antiradang*. Bagian farmasi FK UNSU.

Robbins, SL. dan Kumar V. 1992. *Buku Ajar
Patologi I*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
Hml. 14-17. Surabaya.

Schalm, OW., Jain NC., Carroll EJ. 1986. *Veterinary
haematology* 4th Ed. Lea and Febiger.
Philadephia

Subowo. 1993. *Imunologi Klinik*. Angkasa.
Bandung.

Susilo. 2006. *Kandungan Habbatussauda*, www.habbat.com, diakses tanggal 12 Maret
2008.

Widyawati, T., dkk. 2004. *Keuntungan Sediaan
Preferential COX-2 Inhibitor Dalam
Penanggulangan Nyeri Kanker*, Bagian
Farmakologi dan Teraupetik Fakultas
Kedokteran USU, Sumatra Utara.