

Pengaruh Jintan Hitam (*Nigella sativa*) pada Histopatologi Hepar dan Ginjal Tikus Putih yang Dipapar Organofosfat

The Effect of Black Cumin (Nigella sativa) on Histopathology of Liver and Kidney in Albino Rats with Organophosphate Exposure

Viski Fitri Hendrawan^{1*}, Yudit Oktanella¹, Aulia Firmawati¹,
Galuh Chandra Agustina¹

¹Laboratorium Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Puncak Dieng Eksklusif, Dau, Malang, Jawa Timur, 65151, Indonesia.

*Corresponding author: viski@ub.ac.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap gambaran histopatologi hepar dan ginjal pada tikus putih yang terpapar organofosfat. Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit jantan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yakni (K-) tanpa organofosfat dan jintan hitam, (K+) diinduksi organofosfat 40 mg/kgBB, kelompok perlakuan diinduksi organofosfat 40 mg/kgBB dan ekstrak jintan hitam sebagai terapi (P1) 200 mg/kgBB, (P2) 400 mg/kgBB, dan (P3) 600 mg/kgBB. Pemberian organofosfat selama delapan minggu dan terapi ekstrak jintan hitam diberikan selama tiga minggu kemudian mencit dieutanasia, organ hepar dan ginjal diambil untuk dilakukan pengamatan histopatologi menggunakan Haematoxylin-Eosin (HE). Data dianalisis dengan uji *OneWay* ANOVA dilanjutkan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan signifikan kelompok perlakuan terhadap kerusakan hati dan ginjal ($p < 0,05$). Degenerasi dan nekrosis hepar kelompok P2 dan P3 berbeda dengan K+ dengan rata-rata $2,24 \pm 0,9$, pada ginjal dengan rata-rata $2,52 \pm 0,8$. Dapat disimpulkan ekstrak jintan hitam berpengaruh nyata memperbaiki hepar dan ginjal pada kelompok P3 (600 mg/kgBB).

Kata kunci: organofosfat, jintan hitam, *Nigella sativa*, hepar, ginjal

Abstract

This study aimed to determine the effect of black cumin extract (Nigella sativa) on the histopathological of the liver and kidneys in albino rats exposed to organophosphates. This study used 20 male mice divided into five treatment groups, i.e. (K-) without organophosphate and black cumin, (K+) induced by organophosphate 40 mg/kg BW, treatment group induced by organophosphate 40 mg/kg BW and black cumin extract as therapy (P1) 200 mg/kg BW, (P2) 400 mg/kg BW, and (P3) 600 mg/kg BW. Organophosphate administration for eight weeks and black seed extract therapy was given for three weeks then the mice were euthanized, the liver and kidney organs were taken for histopathological observation using Haematoxylin-Eosin (HE). Data were analyzed using OneWay ANOVA test followed by Tukey test. The results showed that there were significant differences between the treatment groups for liver and kidney damage ($p < 0,05$). Hepatic degeneration and necrosis in the P2 and P3 groups differed from K+ with an average of $2,24 \pm 0,9$, in the kidneys with an average of $2,52 \pm 0,8$. It can be concluded that black cumin extract has a significant effect on improving the liver and kidneys in groups P3 (600 mg/kgBW).

Keywords: organophosphate, black cumin, *Nigella sativa*, liver, kidney

Received: 18 September 2022

Revised: 11 November 2022

Accepted: 12 December 2022

PENDAHULUAN

Penanggulangan hama yang mengganggu aktivitas pertanian paling sering yaitu menggunakan pestisida, namun pada penggunaannya pestisida memiliki dampak

buruk yaitu akumulasi residu pada produk pertanian, pencemaran lingkungan, serta masalah kesehatan pada manusia dan hewan akibat efek toksik non-target dari penggunaan pestisida (Dagg *et al.*, 2019). Pestisida yang sering digunakan di Indonesia ialah jenis organofosfat



(Mendes *et al.*, 2018). Organofosfat merupakan golongan pestisida yang dianjurkan Kementerian Pertanian Indonesia dan disukai oleh petani karena sifatnya lebih cepat dan signifikan dalam membasmi hama dibanding golongan pestisida lainnya (Tuhumury *et al.*, 2012). Salah satu jenis organofosfat yang paling banyak digunakan ialah diazinon. Diazinon bersifat neurotoksik karena bertindak sebagai inhibitor aktivitas enzim asetilkolinesterase yang menyebabkan akumulasi asetilkolin (ACh) pada sinapsis dan *neuromuscular junction*, namun dalam beberapa penelitian diketahui bahwa diazinon dapat menyebabkan efek lain seperti lipid peroksidasi dan gangguan terhadap enzim-enzim antioksidan (Du *et al.*, 2015). Keracunan organofosfat menunjukkan gambaran yang heterogen berkaitan dengan krisis kolinergik serta kerusakan fungsi organ hepar dan ginjal.

Penelitian *in vitro* ditemukan bahwa sel yang diinduksi diazinon menunjukkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) intraseluler yang menyebabkan gangguan keseimbangan redoks sel dan memicu kerusakan pada protein, lipid, dan DNA hingga kematian sel, pada tinjauan jaringan akan dijumpai kerusakan struktur histologi terutama pada hepar dan ginjal. Temuan ini terkonfirmasi dengan gambaran histopatologi hepar dan ginjal sebagai organ yang bertugas untuk memetabolisme dan mengekskresi diazinon (Gaudette *et al.*, 2020).

Hepar adalah kelenjar terbesar di tubuh dan memainkan fungsi paling penting tidak hanya dalam penyimpanan dan pelepasan nutrisi tetapi juga dalam netralisasi dan eliminasi berbagai zat beracun. Ginjal merupakan organ kadang menerima dampak yang tidak diinginkan akibat dari penggunaan obat, seperti toksisitas terhadap nefron (Jannat *et al.*, 2018). Organofosfat dapat meningkatkan stres oksidatif, pembentukan ROS, menginduksi cedera seluler dan nekrosis melalui penurunan tingkat aktivitas enzim antioksidan non-enzimatik dan enzimatis yang mengarah pada produksi berlebihan ROS, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada lipid membran, protein dan asam nukleat, yang menyebabkan toksisitas, disfungsi, dan cedera pada hepar

(Galaly *et al.*, 2014; Almohawes, 2017; Rashid dan Khan, 2017).

Cedera pada hepar dan ginjal yang disebabkan oleh organofosfat dapat dilihat dengan perubahan makroskopis berupa nekrosis dan degenerasi, sedangkan secara mikroskopis ditemukan pembesaran sinusoid, terbentuknya vakuola pada sel hepatosit, portal inflamasi, serta hemoragi hepar, sedangkan pada hepar yaitu adanya degenerasi hidrofik, perubahan histologi tubulus dan glomerulus (Ko *et al.*, 2019).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Qian *et al.*, 2014). Ada berbagai macam tanaman yang digunakan sebagai tanaman obat diantaranya jintan hitam (*Nigella sativa*), tanaman ini sering digunakan oleh masyarakat sebagai anti-inflamasi, antikanker, antiparasit, antibakteri, dan antioksidan (Ping *et al.*, 2014). Senyawa lain yang dikandung jintan hitam yakni resin, alkaloid, flavonoid, asam organik, tannin, saponin dan protein, dalam reproduksi jintan hitam membantu memodulasi siklus reproduksi pada hewan betina, meningkatkan spermatogenesis, meningkatkan karakteristik semen dan mengurangi radikal bebas pada plasma seminalis, meningkatkan kerja *Gonadotropine Releasing Hormone* (GnRH), *Luteinizing Hormone* (LH) dan testosterone (Parandin, 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap gambaran histopatologi hepar dan ginjal pada tikus putih yang terpapar organofosfat.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Jintan Hitam

Proses ekstraksi jintan hitam kering, kemudian dibuat serbuk, ditambahkan etanol 70% sampai terendam, dilanjutkan maserasi satu minggu dengan penggantian pelarut, kemudian filtrasi diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang terkumpul hingga filtrat jernih akan diteruskan ke

tahap evaporasi menggunakan Rotatory Evaporator suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak jintan hitam. Ekstrak hasil evaporasi yang berbentuk cair dikeringkan menggunakan freeze dryer (Linianti *et al.*, 2017).

Pemberian Organofosfat

Pemberian organofosfat dilakukan setelah aklimatisasi tujuh hari secara per oral dengan sonde lambung pada minggu ke-2 hingga minggu ke-8 dosis 40 mg/kgBB (Pratama *et al.*, 2019), kelompok P1, P2, dan P3 diberikan terapi ekstrak jintan hitam dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB mulai minggu ke-5 hingga minggu ke-8 (Hadi *et al.*, 2018). Semua prosedur penelitian berjalan sesuai dengan uji etik (Universitas Brawijaya No. 935-KEP-UB).

Pembuatan Preparat Histopat

Pembuatan preparat menggunakan metode parafin yaitu fiksasi menggunakan NBF 10%, kemudian dehidrasi alkohol bertingkat 50% selama 24 jam, etanol 70% selama dua jam, etanol 80%, 95% dan absolut 20 menit, kemudian clearing larutan xylol I 20 menit dan xylol II 30 menit. Kemudian infiltrasi dan embedding, dilanjut section/trimming, diletakkan di atas object glass yang telah diolesi entellan dan dilakukan pewarnaan Haematoxylin-Eosin (HE). Preparat diamati jaringan hepar dan ginjal menggunakan mikroskop cahaya Olympus DP20 perbesaran 400x yang dilengkapi camera Optilab (Aulanni'am *et al.*, 2012).

Analisis Data

Analisis data menggunakan uji *OneWay* ANOVA, dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dilanjutkan dengan uji Tukey (Sukestiyarno, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skoring kerusakan jaringan hepar di tiap perlakuan akan dinilai menurut Knodell (2000) dan Klopffleisch (2013) yang telah dimodifikasi. Berdasarkan uji *OneWay* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada rata-rata degenerasi dan fokal nekrosis hepatosit dari

kelima kelompok yang diuji ($p<0,05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa jintan hitam memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi hepatosit pada hepar tikus putih yang diinduksi organofosfat. Pada K+ $3,28\pm 1,13$ nilai degenerasi dan fokal nekrosis dengan nilai lebih tinggi dibanding K- $0,88\pm 1,54$ (Tabel 1), kemudian nilai degenerasi dan fokal nekrosis hepatosit P3 yaitu $2,04\pm 0,38$ memiliki nilai lebih rendah dibanding P1 yaitu $2,84\pm 0,62$, hal ini sesuai dengan Khan dan Afzal, 2016 yang menyatakan bahwa pemberian organofosfat lebih dari tujuh hari menyebabkan perubahan berupa pembengkakan hepatosit, degenerasi inti sel, kongesti serta pendarahan jaringan (Gambar 1).

Sedangkan pemberian organofosfat dosis berlebih ditambah ekstrak jintan hitam menunjukkan hasil berupa kerusakan hepatosit dan nekrosis yang lebih sedikit dibandingkan dengan pemberian organofosfat tanpa ekstrak jintan hitam karena ekstrak jintan hitam memiliki efek hepatoprotektif yaitu thymoquinone yang menghambat aktivitas hepatic isozim CYP1A1/A2 yang terlibat dalam biotransformasi dari xenobiotic sebagai pemicu genotoksik. Sifat-sifat antioksidan thymoquinone juga bertanggung jawab terhadap nekrosis hingga kerusakan kronis pada sel-sel hepar, selain itu thymoquinone dapat mengurangi dampak dari ROS yang diproduksi, mampu meningkatkan aktivitas katalase dan sebagai protektor terhadap jaringan hepar dari jejas (Afdin *et al.*, 2018).

Hepatosit yang mengalami nekrosis akan melepaskan berbagai mediator yang akan memulai proses inflamasi dan menarik datangnya sel-sel radang. Adanya sel radang tersebut dapat diamati pada kelompok hewan coba yang diberi paparan organofosfat secara terus menerus (Aqil *et al.*, 2018). Kerusakan hepatosit akibat pemberian organofosfat secara terus-menerus diduga akibat stres oksidatif. Pada hewan coba yang dipaparkan organofosfat terjadi peningkatan malondialdehid (MDA) dan penurunan enzim pengikat radikal bebas endogen. Khan *et al.*, 2016 melaporkan bahwa organofosfat menginduksi peroksidasi lipid membran. Paparan organofosfat yang terus menerus akan membentuk ROS yang menyebabkan peroksidasi lipid.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan skoring degenerasi dan fokal nekrosis hepar tikus putih

Kelompok	Rata-Rata±Simpangan Baku
K+	3,28 ^a ±1,13
K-	0,88 ^a ±1,54
P1	2,84 ^a ±0,62
P2	2,32 ^a ±0,57
P3	2,04 ^a ±0,38

Kelompok K+, K-, P1, P2, P3 memiliki notasi yang sama (p>0,05).

Tabel 2. Hasil pemeriksaan skoring tubulus ginjal tikus putih

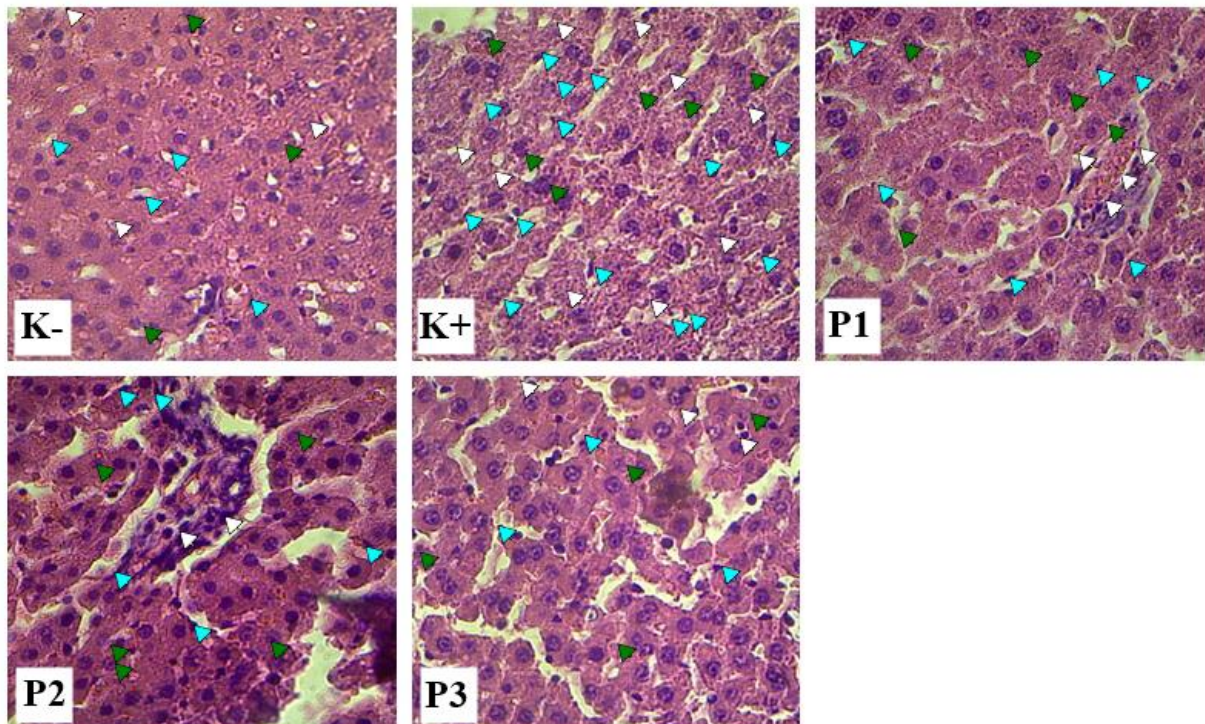
Kelompok	Rata-Rata±Simpangan Baku
K+	2,76 ^a ±0,47
K-	1,00 ^a ±0,93
P1	2,20 ^a ±0,52
P2	2,00 ^a ±1,48
P3	1,96 ^a ±1,29

Kelompok K+, K-, P1, P2, P3 memiliki notasi yang sama (p>0,05).

Tabel 3. Hasil pemeriksaan skoring glomerulus ginjal tikus putih

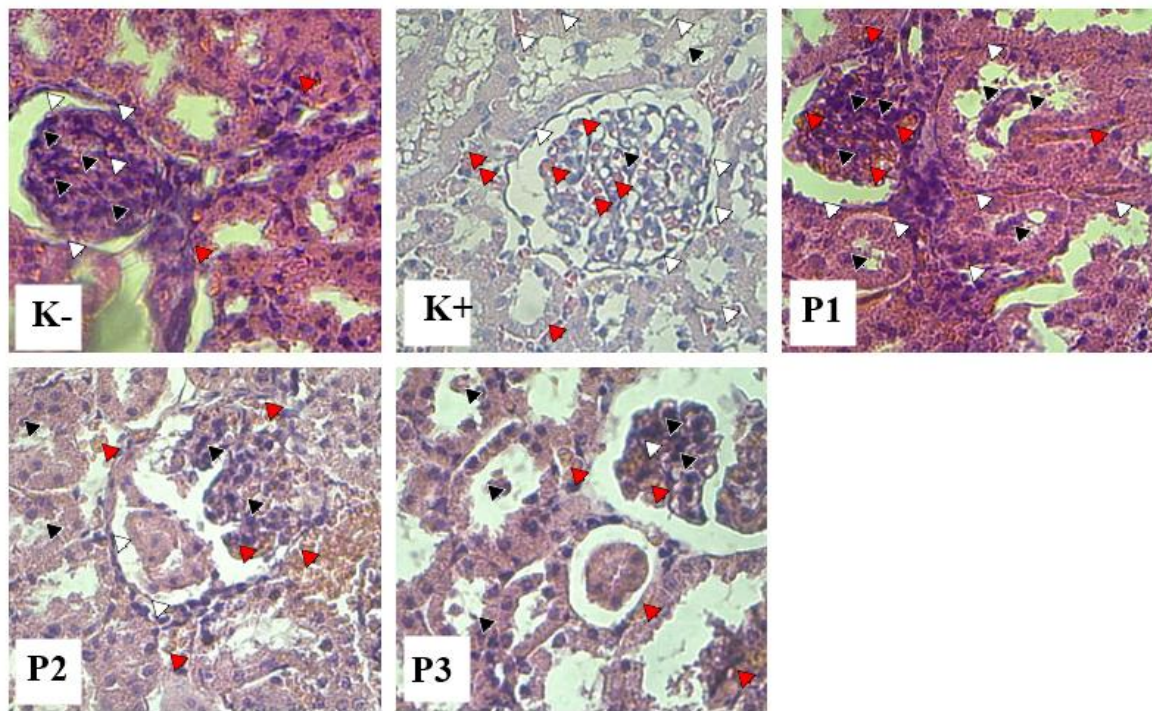
Kelompok	Rata-Rata±Simpangan Baku
K+	2,80 ^a ±0,44
K-	0,84 ^a ±0,68
P1	2,20 ^a ±0,83
P2	1,84 ^a ±0,80
P3	1,68 ^a ±0,26

Kelompok K+, K-, P1, P2, P3 memiliki notasi yang sama (p>0,05).



Gambar 1. Kerusakan jaringan hepar tiap perlakuan (400x, pewarnaan HE).

- ⇨ Infiltrasi sel radang PMN
- ⇨ Degenerasi hepatosit
- ⇨ Nekrosis sel



Gambar 2. Kerusakan jaringan ginjal tiap perlakuan (400x, pewarnaan HE).

- Nekrosis sel
- Infiltrasi sel radang PMN
- Hemoragi

Efek toksik dan inflamasi dari organofosfat pada hepar dapat dinetralisir oleh antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan berbagai antioksidan yang terdapat dalam ekstrak tanaman obat dapat digunakan untuk menekan stres oksidatif yang diinduksi organofosfat pada hewan percobaan diantaranya jintan hitam. Ekstrak jintan hitam utamanya berperan sebagai pembersih/penyapu radikal bebas, membentuk kompleks dengan logam (*metal chelation*), serta menstabilkan sistem membran (Kooti *et al.*, 2016). Biokomponen jintan hitam berperan sebagai antioksidan, memulihkan fungsi sel hepar yang rusak akibat radikal bebas yang dihasilkan oleh organofosfat. Sifat antioksidan ini terdapat dalam jintan hitam dengan timoquinon sebagai komponen aktif terbesarnya (Wang *et al.*, 2020), selain itu juga mengandung karoten yang diubah oleh hepar menjadi vitamin A sebagai penghancur sel-sel rusak pemicu kanker, sebagai antibakteri, dan memiliki kandungan kalsium, sodium, potasium, magnesium, selenium dan zat besi yang dibutuhkan dalam jumlah membantu fungsi enzim sebagai stimulus imunitas tubuh (Mahdavi *et al.*, 2015). Jintan hitam mampu menekan

perubahan patologis dan kerusakan jaringan hepar akibat jejas (Molazadeh *et al.*, 2017). Jintan hitam dengan dosis 250-500 mg/kgBB juga mampu melindungi hepar dari induksi organofosfat (Hu *et al.*, 2019).

Dari uji *OneWay* ANOVA didapatkan perbedaan rata-rata skor kerusakan histologis nefritis interstitialis tubulus ginjal yang bermakna antara kelompok K+, K-, P1, P2 dan P3. Pada kelompok P3 memiliki nilai kerusakan tubulus lebih rendah dengan nilai $1,96 \pm 1,29$ pada nefritis interstitialis tubulus medulla, dibanding P1 dengan rata-rata $2,2 \pm 0,52$ (Tabel 2). Nilai tersebut menunjukkan bahwa jintan hitam memiliki efek protektif terhadap gambaran nefritis interstitialis tubulus ginjal tikus.

Analisis rata-rata pada kerusakan glomerulus, yaitu nampak adanya degenerasi dan fokal nekrosis. Pada perlakuan K+ memiliki nilai rata-rata tertinggi yaitu $2,8 \pm 0,44$, kemudian pada kelompok P1 yaitu $2,2 \pm 0,83$ daripada P3 yaitu perlakuan pemberian organofosfat 40 mg/kgBB dan terapi ekstrak jintan hitam 600 mg/kgBB selama delapan minggu + terapi ekstrak jintan hitam 200 mg/kgBB yaitu $1,68 \pm 0,26$ (Tabel 3).

Nilai tersebut menunjukkan bahwa jintan hitam memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi degenerasi dan focal nekrosis pada tubulus ginjal tikus putih.

Mekanisme kerusakan ginjal berawal dari adanya proses pengeluaran toksin dari organofosfat yang memberikan efek nefrotoksik, sehingga memicu *acute kidney injury*, individu yang terpapar organofosfat memiliki resiko 6,17 kali lebih tinggi terdampak *acute kidney injury*. Kerusakan ginjal karena zat toksik dapat diidentifikasi berdasarkan perubahan struktur histologinya, yaitu nefritis interstitial, degenerasi tubular dan glomerular yang secara morfologi ditandai dengan nekrosis sel yang ditunjukkan pada Gambar 2 (Suhita, 2013). Perbedaan nyata juga nampak pada pemberian terapi jintan hitam dengan berbagai dosis, karena tiap dosis memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi yang berbeda. Hal tersebut sesuai teori bahwa antioksidan pada ekstrak jintan hitam dapat mengurangi degenerasi sel akibat radikal bebas. Antioksidan dapat ditemukan pada jintan hitam yang telah diketahui sebagai antioksidan yang mampu mempertahankan integritas membran sel. Pemberian terapi ekstrak jintan hitam dosis tinggi dapat memberikan proteksi terhadap kerusakan sel pada ginjal. Sebagai antioksidan, vitamin E berfungsi sebagai donor ion hidrogen yang mampu mengubah radikal peroksil menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak Indrianita (2013).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak biji jintan hitam dapat mempengaruhi perbaikan jaringan hepar dan ginjal tikus putih yang diinduksi organofosfat. Dosis terbaik ekstrak biji jintan hitam yang dapat digunakan sebagai alternatif hepatoprotektor dan renoprotektor tikus akibat induksi organofosfat adalah 600 mg/kgBB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami sampaikan pada pihak terkait yang telah berkontribusi pada penelitian

ini diantaranya peneliti dan Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

DAFTAR PUSTAKA

- Afdin, Rizky, & Quzwain, F. (2018). Efek Hepatoprotektor Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap kerusakan Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Etanol. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 6, 36-44.
- Almohawes, Z. N. (2017). Protective Effect of Melatonin on Gentamicin Induced Hepatotoxicity in Rats. *Journal Pharmacology Toxicology*, 12(3), 129-135.
- Aqil, K., Khan, M. U., Aslam, A., Javeed, A., Qayyum, R., & Yousaf, F. (2018). In vitro Antiviral Activity of *Nigella sativa* against Peste des Petits Ruminants (PPR) Virus. *Pakistan Journal Zoology*, 50(6), 2223-8.
- Aulanni'am, Roosdiana, A., & Rahmah, N. L. (2012). The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Life Sciences*, 6, 144-154.
- Dagg, K., Irish, S., Wiegand, R. E., Shililu, J., Yewhalaw, D., & Messenger, L. A. (2019). Evaluation of toxicity of clothianidin (neonicotinoid) and chlorfenapyr (pyrrole) insecticides and cross-resistance to other public health insecticides in *Anopheles arabiensis* from Ethiopia. *Malaria Journal*, 18(1), 49.
- Du, L., Dong, F., Guo, L., Hou, Y., Yi, F., Liu, J., & Xu, D. (2015). Interleukin-1 β increases permeability and upregulates the expression of vascular endothelialcadherin in human renal glomerular endothelial cells. *Molecular Medical Report*, 11, 3708-3714.

- Galaly, S. R., Ahmed, O. M., & Mahmoud, A. M. (2014). Thymoquinone and Curcumin Prevent Gentamicin-Induced Liver Injury by attenuating Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 65(6), 823-832.
- Gaudette, S., Hughes, D., & Boller, M. (2020). The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *Journal Veterinary Emerging Critical Care*, 30, 117–134.
- Hadi, S., Mirmiran, P., Daryabeygi-Khotbesara, R., & Hadi, V. (2018). Effect of *Nigella sativa* oil extract on inflammatory cytokine response and oxidative stress among people with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Progress in Nutrition*, 20(1-S), 127-33.
- Indrianita, A. (2013). Efek Kombinasi Jus Buah Jambu Biji (*Psidium guajava*) dan Perasan Daun Murbei (*Morus indica* Auct. Non. L.) Terhadap Gangguan Toleransi Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Akibat Efek Samping Deksametason. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1).
- Jannat, N., Amin, T., Sultana, N., Jahan, M. R., & Islam, M. R. (2018). Long term administration of gentamicin affects hemato-biochemical parameters and liver architecture of Swiss Albino mice. *Journal Advance Biotechnology*, 1(2), 29-35.
- Khan, M. A., & Afzal, M. (2016). Chemical composition of *Nigella sativa* Linn: part 2 recent advances. *Inflammopharmacology*, 24, 67-79.
- Klopfleish, R. (2013). Multiparametric and Semiquantitative Scoring Systems for the Evaluation of Mouse Model Histopathology - A Systematic Review. *BMC Veterinary Research*, 1(1), 1-6.
- Ko, S. Y., Wang, S. E., Lee, H. K., Jo, S., Han, J., Lee, S. H., & Son, H. (2019). Transient receptor potential melastatin 2 governs stress-induced depressive-like behaviors. *Proceeding Natural Academy Science*, 116, 1770–1775.
- Kooti, W., Hasanzadeh-Noohi, Z., Sharafi-Ahvazi, N., Asadi-Samani, M., & Ashtary-Larky, D. (2016). Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (*Nigella sativa*). *Chinese Journal Natural Medicine*, 14(10), 732-45.
- Linianti, L., Nur, I., Maulidiyah, M., & Yusnaini, Y. (2017). Potensi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) untuk Pengendalian Bakteri *Vibrio harveyi* Penyebab Penyakit pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan*, 1(1), 25-29.
- Mahdavi, R., Namazi, N., Alizadeh, M., & Farajnia, S. (2016). *Nigella sativa* oil with a calorie-restricted diet can improve biomarkers of systemic inflammation in obese women: A randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal Clinical Lipid*, 10(5), 1203-1211
- Mendes, P. A., Pereira, T. C., Pina, R., & Santos, R. (2018). Chlorpyrifos-Induced Delayed Neurotoxicity with A Rare Presentation of Flaccid Quadriplegia: A Diagnostic Challenge. *European Journal Case Report Internal Medicine*, 5(1), 000751.
- Molazadeh, M., Ahmadzadeh, H., Pourianfar, H., Lyon, S., & Rampelotto, P. (2019). The Use of Microalgae for Coupling Wastewater Treatment With CO2 Biofixation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 42.
- Ping, N. C., Noor, H. H., & Durriyyah, S. H. A. (2014). Effects of *Nigella sativa* (Habbatus sauda) Oil and Nicotine Chronic Treatments on Sperm Parameters and Testis Histological Features of Rats. *Evidence-Based*

- Complementary and Alternative Medicine*, 2014: 1-7.
- Parandin, R., Namdar, Y., & Rostam, G. (2012). The Enhancing Effect of Alcoholic Extract of *Nigella sativa* Seed on Fertility Potential, Plasma Gonadotropins and Testosterone in Male Rats. *Iranian Journal Reproduction Medicine*, 10(4), 355-362.
- Pratama, Kirmani, D., & Asif, M. (2019). Biochemical Effects of *Nigella sativa* L Seeds in Diabetic Rats, India, *Indian Journal of Experimental Biology*, 12(1).
- Qian, W., Xiong, X., Fang, Z., Lu, H., & Wang, Z. (2014). Protective effect of tetramethylpyrazine on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Evidence Based Complementary Alternative Medicine*, 2014, 2014.
- Rashid, U., & Khan, M. R. (2017). *Fagonia oliveri* prevented hepatorenal injuries induced with
- gentamicin in rat. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 88, 469- 479.
- Suhita, N. L. P. R. (2013). Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. Denpasar: *Buletin Veteriner Universitas Udayana*, 8(2).
- Sukestiyarno, Y. L. (2014). *Statistika Dasar*. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Tuhumury, G. N. C., Leatemia, J. A., Rumthe, R. Y., & Hasinu, J. V. (2012). Residu Pestisida Produk Sayuran Segar di Kota Ambon. *Agrologia*, 1(2), 99-105.
- Wang, J. Z., Zhang, R. Y., & Bai, J. (2020). An anti-oxidative therapy for ameliorating cardiac injuries of critically ill COVID-19-infected patients. *International Journal Cardiology*, 31(2), 137-8.
