

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP KADAR MDA SERUM TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH DIBERIKAN PAPANAN ASAP ROKOK

Reynold Christian Sirait¹, Kusmiyati Tjahjono DK², Amallia N. Setyawati²

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Malondialdehid (MDA) adalah salah satu marker radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang terbentuk akibat kerusakan oksidatif. Paparan asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa untuk mengatasi kerusakan oksidatif yang berasal dari dalam dan luar tubuh. Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman herbal yang mempunyai potensi sebagai antioksidan. Pemberian ekstrak jintan hitam diharapkan dapat menurunkan kadar MDA.

Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap kadar MDA serum tikus *Sprague Dawley* setelah diberikan paparan asap rokok.

Metode : Penelitian ini bersifat *true experimental with posttest only control group design*. Sampel adalah 18 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan yang memenuhi kriteria, dan dibagi dalam tiga kelompok; K1 merupakan kelompok kontrol negatif; kelompok K2 diberi paparan asap rokok 4 batang/hari; kelompok P diberi paparan asap rokok 4 batang/hari dan ekstrak jintan hitam 500 mg/hari. Setelah 28 hari penelitian dilakukan pengambilan darah tikus pada hari ke-29 untuk diperiksa kadar MDA-nya. Data dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*.

Hasil : Rerata kadar MDA serum: kelompok K1 sebesar $0,99 \pm 0,56 \mu\text{mol/L}$; kelompok K2 sebesar $2,28 \pm 1,88 \mu\text{mol/L}$; kelompok P sebesar $1,14 \pm 0,74 \mu\text{mol/L}$. Pada uji *Kruskal Wallis* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ($P > 0,05$).

Kesimpulan : Ekstrak jintan hitam dapat menurunkan kadar MDA serum tikus *Sprague Dawley* yang telah diberikan paparan asap rokok secara tidak signifikan.

Kata Kunci : Jintan hitam, MDA serum, asap rokok

ABSTRACT

THE EFFECT OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa*) EXTRACT ON MDA SERUM LEVEL OF SPRAGUE DAWLEY RAT AFTER BEING EXPOSED BY THE CIGARETTE SMOKING

Background: Malondialdehyde (MDA) is one of free radical markers from the body. Free radicals are molecules which are formed by oxidative damage. Cigarette smoke exposure is one of the source of free radicals. Antioxidants are known as compound that is able to quell with oxidative damage came from the inside and outside of body. Black cumin (*Nigella sativa*) is a medicinal plant that has a potential as antioxidant. Administration of *Nigella sativa* is expected to decrease the MDA level.

Purpose: To determine the effect of *Nigella sativa* extract administration on MDA level after cigarette smoke exposure.

Method: True experimental posttest only control group design. Samples were 18 male Sprague Dawley rats which fulfilled the criteria, which were randomized into 3 groups; group K1 was negative control group; group K2 was exposed to cigarette smoke from 4 cigarettes/day; group P was exposed to cigarette smoke from 4 cigarettes/day and given *Nigella sativa* extract 500mg/day. After 28 days of research, blood test on samples were done in 29th day to check their MDA levels. The data were analyzed with Kruskal Wallis test.

Result: The mean of MDA serum level: group K1 was $0,99 \pm 0,56 \mu\text{mol/L}$; group K2 was $2,28 \pm 1,88 \mu\text{mol/L}$; group P was $1,14 \pm 0,74 \mu\text{mol/L}$. The Kruskal Wallis test found no significant difference between groups ($p > 0,05$).

Conclusion: *Nigella sativa* extract decreased the MDA serum level of Sprague Dawley rats exposed by cigarette smoke insignificantly.

Key Word: Black cumin (*Nigella sativa*), MDA serum, cigarette smoke

PENDAHULUAN

Malondialdehid (MDA) adalah salah satu marker radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang terbentuk akibat kerusakan oksidatif.¹ Malondialdehid (MDA) terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, hasil akhir reaksi tersebut adalah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk.²

Bahan baku rokok dibedakan menjadi rokok putih, rokok kretek, dan rokok klembak. Rokok berdasarkan penggunaan filter dibagi menjadi rokok filter dan nonfilter. Asap pembakaran rokok kretek lebih berbahaya karena tidak menggunakan filter.³ Asap rokok merupakan faktor risiko untuk kanker mulut, kanker esofagus, kanker paru-paru, dan sirosis hati.⁴ Beberapa senyawa dalam asap rokok bersifat toksik seperti bahan karsinogen, tar, nikotin, nitrosamin, karbonmonoksida, senyawa *Polynuclear Aromatic Hydrocarbon* (PAH), fenol, karbonil, klorin dioksin, dan furan.⁵

Asap dari pembakaran rokok mengandung radikal bebas serta spesies dari oksigen yang diturunkan lainnya.⁶ Asap rokok juga dapat mempengaruhi penurunan antioksidan pada serum, hal ini disebabkan oleh radikal bebas dalam kandungan asap rokok yang lebih besar daripada antioksidan dalam tubuh sehingga memicu terjadinya stres oksidatif. Dampak negatif dari radikal bebas dapat di cegah dengan pemberian antioksidan.

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat digunakan untuk mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*).⁷ Antioksidan dapat berasal dari tubuh atau dari luar tubuh. Antioksidan dari luar tubuh adalah

bahan makanan alami dari tanaman. Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan adalah jintan hitam (*Nigella sativa*).

Jintan hitam mempunyai potensi antioksidan dengan mempunyai kemampuan *radical scavenging* yang efektif pada peroksidasi lipid nonenzimatis dan degradasi deoxyribose.⁸ Berdasarkan penelitian Susianti (2013) dan Rundlia AD (2011) menjelaskan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam pada sampel tikus sebanyak 1-2 g/KgBB/hari selama 10 hari dapat menunjukkan efek terapeutik.^{9 10}

Melihat potensi antioksidan di dalam jintan hitam tersebut, maka pada penelitian ini akan diuji potensi antioksidan jintan hitam tersebut dalam mencegah terjadinya stres oksidatif di tikus *Sprague Dawley* akibat paparan asap rokok. Penelitian ini akan menggunakan ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari dan paparan asap rokok kretek sebanyak empat batang per hari. Parameter yang dinilai adalah kadar MDA serum.

METODE

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan *post-test only with control group design* yang menggunakan binatang coba sebagai objek penelitian. Perlakuan yang diberikan adalah dengan memberikan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) pada tikus *Sprague dawley* yang diberi paparan asap rokok. Penelitian ini dilakukan di tiga laboratorium yang berbeda. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) Unit IV digunakan untuk pengandangan, pemeliharaan dan pengambilan sampel darah hewan coba, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada digunakan untuk pemeriksaan kadar MDA serum dan Laboratorium Kimia Universitas Diponegoro digunakan untuk pembuatan ekstrak jintan hitam. Secara keseluruhan penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai dengan Mei 2016.

Sampel yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley* yang diperoleh dari LPPT UGM Unit IV. Sampel dikandangkan dalam kandang yang terbuat dari bahan *stainless steel* dengan siklus pencahayaan 12 jam, mendapat makan dan minum *ad libitum* dan suhu kandang 28-32°C. Tikus *Sprague Dawley* dipilih karena memiliki karakteristik fisiologis dan metabolisme mirip dengan manusia. Kriteria inklusi: berkelamin jantan, berumur 12 minggu, dan berat badan 200-250 gram. Kriteria ekskusi: terdapat kelainan anatomis, terlihat sakit dan/atau tidak aktif selama proses penelitian, sampel mengalami diare, perubahan perilaku, mati, dan penurunan berat badan sebanyak lebih dari 10% saat proses penelitian berlangsung.

Tahap awal penelitian, sampel akan mendapatkan adaptasi dan hanya akan diberikan pakan dan air minum standar *ad libitum*. WHO mensyaratkan minimal penggunaan lima ekor sampel untuk setiap kelompok pada penelitian eksperimental, maka penelitian ini menggunakan enam ekor tikus setiap kelompoknya dengan jumlah keseluruhan 18 ekor tikus yang dibagi secara acak, antara lain: kelompok kontrol negatif atau K1 (tanpa perlakuan); kelompok kontrol positif atau K2 (pemaparan asap rokok, empat batang perhari); kelompok perlakuan atau P (pemaparan asap rokok, empat batang perhari dan pemberian ekstrak jantan hitam 500 mg/hari).

Penelitian ini dilakukan selama 28 hari didasari pada penelitian Happy Kurnia dkk terkait penurunan kadar MDA tikus akibat pemaparan asap rokok dan penelitian Susianti (2013) serta Rundlia AD (2011) terkait efek terapeutik dari ekstrak jantan hitam. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa pemberian ekstrak jantan hitam pada hewan coba berjenis tikus sebanyak 1-2 g/KgBB/hari selama 10 hari dapat menunjukkan efek terapeutik yang signifikan.^{9 10} Penelitian lain menyebutkan bahwa pemberian ekstrak jantan hitam sebanyak 3 g/KgBB belum menunjukkan efek toksik dari ekstrak tersebut.¹¹ Peneliti memutuskan untuk memberikan ekstrak jantan hitam dengan dosis sebesar 2 g/KgBB/hari. Selanjutnya sesuai dengan salah satu kriteria inklusi sampel yaitu berat badan hewan coba berkisar antara 200-250 gram, maka didapatkan dosis ekstrak jantan hitam yang harus diberikan berkisar antara 400-500 mg/hari, sesuai dengan berat badan hewan coba. Ditetapkan dosis terapi harian yang diberikan menjadi 500 mg/hari untuk seluruh hewan coba pada penelitian ini

Spesimen darah diambil dari pleksus vena retro orbita sampel pada hari ke-29. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam tabung ependorf. Seluruh spesimen darah tersebut lalu dibawa ke Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada untuk dilakukan pemeriksaan darah, sehingga dapat diketahui kadar MDA serumnya.

Analisis data primer yang didapat akan dilihat sebaran distribusi datanya melalui uji *Shapiro-Wilk* dan dilihat juga homogenitas datanya melalui *Levene's test*. Data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan melakukan uji *One-way Anova* dan data berdistribusi tidak normal dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* untuk menganalisis perbedaan antar kelompok, bila terdapat perbedaan yang bermakna akan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U*.

HASIL

Kadar MDA Serum

Hasil pemeriksaan kadar MDA serum dapat dilihat pada Tabel 1. Rerata kadar MDA Serum didapatkan pada kelompok K1 (tanpa perlakuan), kelompok K2 (paparan asap rokok, empat batang perhari), dan kelompok P (paparan asap rokok, empat batang perhari dan pemberian ekstrak jintan hitam 500 mg/hari). Sedangkan rerata kadar MDA serum terendah didapatkan pada kelompok K1 (tanpa perlakuan) dan kadar MDA serum tertinggi didapatkan pada kelompok K2 (paparan asap rokok, empat batang perhari).

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Kadar MDA Serum

Sampel	Kadar MDA Serum (µmol/L)		
	K1	K2	P
1	0,471	1,319	0,094
2	0,664	1,352	0,655
3	1,766	5,639	1,786
4	0,701	1,593	1,723
5	1,388	1,514	1,420
X ± SD	0,99±0,56	2,28±1,88	1,14±0,74

Analisis Data

Uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data. Uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan sebaran data normal ($p>0,05$) pada kelompok K1 dengan nilai $p=2,99$ dan kelompok P dengan nilai $p=0,322$. Pada kelompok K2 didapatkan sebaran data tidak normal ($p<0,05$) dengan nilai ($p=0,001$) sehingga syarat uji *One-way Anova* tidak terpenuhi dan digunakan uji alternatif non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*. Varian data yang di uji menggunakan *Levene's test* menunjukkan varian data homogen dengan nilai $p=0,135$ ($p>0,05$) pada ketiga kelompok. Hasil uji beda *Kruskal Wallis* dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. *Kruskal Wallis test*

Kelompok	Median (min – maks)	P
K1	0,70 (0,47 – 1,77)	0,445
K2	1,51 (1,32 – 5,64)	
P	1,42 (0,09 – 1,79)	

*Data Bermakna ($p<0,05$)

Uji *Kruskal Wallis* kadar MDA serum menghasilkan interpretasi terdapat perbedaan kadar MDA yang tidak bermakna pada 3 kelompok dengan nilai $p=0,445$ ($p>0,05$) sehingga uji beda antar kelompok dengan menggunakan analisis *Man Whitney U* yang merupakan uji perbandingan antar kelompok tidak perlu dilakukan.

PEMBAHASAN

Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Kadar MDA Serum

Pemberian paparan asap rokok bertujuan untuk meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Kelompok Kontrol negatif (K1) pada penelitian ini dijadikan sebagai parameter nilai normal kadar MDA serum. Pemaparan asap rokok non filter yang dilakukan pagi hari dan sore hari dengan jumlah 4 batang/hari pada kelompok kontrol positif (K2) menghasilkan kadar MDA serum tikus lebih tinggi 56,57% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K1). Kelompok perlakuan (P) yang diberikan paparan asap rokok dan ekstrak jintan hitam menghasilkan kadar MDA serum tikus lebih tinggi 13,15% terhadap kelompok kontrol negatif (K1)

Perbedaan rerata kadar MDA serum kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), dan kelompok perlakuan (P) pada penelitian ini diperoleh hasil yang tidak signifikan. Hal ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Rahmani Kahnamoei dkk (2014) yang mengemukakan bahwa kadar MDA meningkat selain disebabkan paparan asap rokok tetapi juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan.¹²

Asap rokok mengandung bahan kimia seperti tar, nikotin, carbon monoksida, dan partikel lainnya yang mengandung radikal bebas yang sangat banyak.^{13 14} Paparan asap rokok yang diberikan meningkatkan produksi radikal bebas dalam tubuh.¹⁵ Kadar yang terlalu banyak didalam tubuh menyebabkan radikal bebas dapat merusak jaringan normal dan menyebabkan stres oksidatif pada tubuh. Peroksidasi lipid didalam tubuh terjadi sebagai respon dari peningkatan stres oksidatif yang menghasilkan produk akhir MDA. Akibat dari radikal bebas dalam jumlah besar tersebut antara lain gangguan produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, pembuluh darah, kerusakan sel dan mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi terhadap lingkungannya.¹⁶

Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Setelah Diberikan Paparan Asap Rokok

Pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari setelah diberikan paparan asap rokok sebanyak 4 batang/hari pada kelompok perlakuan (P) menghasilkan kadar MDA serum lebih tinggi 13,15% jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol negatif (K1). Kelompok yang diberikan ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari setelah terpapar asap rokok sebanyak 4 batang/hari (P) menghasilkan MDA serum tikus lebih rendah 50% jika dibandingkan dengan kelompok yang terpapar asap rokok sebanyak 4 batang/hari tanpa pemberian ekstrak jintan hitam (K2).

Penelitian ini sejalan dengan dengan Marwan dkk (2005). Hasil dari penelitian tersebut adalah pada kelompok yang diberikan paparan asap rokok dan ekstrak jintan hitam menghasilkan kadar MDA lebih rendah 58,33% dibandingkan dengan kelompok kontrol.¹⁷ Ekstrak jintan hitam ini didapatkan dari proses ekstraksi dengan metode soxhletasi dan saat diberikan pada sampel ekstrak tersebut akan dicairkan terlebih dahulu dengan penambahan 4 ml aquades untuk setiap dosisnya.

Mekanisme Jintan hitam dalam menetralkan ROS adalah dengan meningkatkan kerja enzim-enzim antioksidan dalam tubuh serta menekan peroksidasi lipid. Jintan hitam dalam dosis terapeutik sebanyak 1-2 g/kgBB/hari dapat menurunkan kadar MDA dalam tubuh.^{9 10} Senyawa yang terkandung dalam Jintan hitam seperti *Tymoquinone*, vitamin C, serta vitamin E memiliki peran yang signifikan.¹⁸ Kandungan thymoquinone pada jintan hitam telah terbukti dapat menekan stress oksidatif.¹⁹ Vitamin C mampu bereaksi dengan radikal biologis dan mereduksi oksidan-oksidan. Mekanisme vitamin C sebagai antioksidan adalah dengan mendonorkan hidrogen dari gugus hidroksilnya.²⁰ Vitamin C bekerja bersama-sama dengan vitamin E dalam menghambat reaksi oksidasi.²¹

Bukti epidemiologis menunjukkan bahwa individu dengan diet yang banyak mengandung senyawa antioksidan, vitamin C dan vitamin E tidak rentan terkena penyakit akibat spesies oksigen reaktif (ROS), dibandingkan individu dengan diet kekurangan senyawa tersebut.²²

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari pada hari ke-8 hingga hari ke-28 pada kelompok perlakuan (P) terbukti dapat menghasilkan perubahan kadar MDA serum tikus Sprague Dawley, berupa penurunan jika dibandingkan dengan kelompok K2 (kontrol positif) tetapi tidak bermakna secara statistik.

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut mengenai dosis rokok yang lebih efektif, kandungan pada jintan hitam yang memiliki antioksidan tertinggi, dan dosis ekstrak jintan hitam yang bertingkat sehingga dapat diketahui dosis yang efektif, serta proses sonde harus sangat diperhatikan agar tidak menimbulkan keadaan stress oksidatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis juga berterima kasih kepada Dr. dr. Kusmiyati Tjahjono DK., M.Kes dan dr. Amallia N. Setyawati, M.Si.Med selaku dosen pembimbing karya tulis ilmiah, dr. Dwi Ngestiningsih, M. Kes., Sp. PD selaku ketua penguji, dr. Aryu Candra K., M.Kes.Epid selaku penguji, serta keluarga dan teman-teman yang senantiasa memberikan doa dan dukungan sehingga penulisan hasil karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Matsuzaki S, Szweda PA, Szweda LI, Humphries KM. Regulated Production of Free Radicals by the Mitochondrial Electron Transport Chain: Cardiac Ischemic Preconditioning. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2009;61(14):1324–31. Available from:<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2789306&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
2. Putri DR. Efek Antioksidan Fraksi Larut Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji(*Psidium guajava* L .) pada Kelinci yang dibebani Glukosa. Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2009.
3. Susanna D, Hartono B, Fauzan H. Penentuan Kadar Nikotin dalam Asap Rokok. *Makara Kesehat*. 2003;7(2):2–5.

4. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K. Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effects with Other Respirable Particles. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2009;6(2):445–62. Available from: <http://www.mdpi.com/1660-4601/6/2/445/>
5. Fowles J, Bates M, Noiton D. The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarette Smoke : Priorities for Harm Reduction. *Epidemiology*. 2000;(March):1–67.
6. Pinnell SR. Cutaneous Photodamage, Oxidative Stress, and Topical Antioxidant Protection. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2003 Jan [cited 2016 Jun 14];48(1):1–19; quiz 20–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12522365>
7. Wulansari D, Chairul. Penapisan Aktivitas Antioksidan Dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2 , 2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (Dpph) Antioxidant Screening Activity of Several Indonesian Medicinal. *Majalah Obat Tradisional*. 2011;16(1):22–5.
8. Burist M BF. Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. 2000;14(5):323–8.
9. Dalla RA. Efek Antiinflamasi Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) pada Tikus Putih. Widya Mandala Catholic University Surabaya; 2011.
10. Susianti. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa L .*) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar , Paru , dan Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Gentamisin The Effect of Black Cumin (*Nigella Sativa L .*) Extract to The Histopathological Appea. *Sainsmat*. 2013;II(2):107–18.
11. Adrianto FN. Uji Potensi Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Asal Indonesia sebagai Obat Antiparkinson. Universitas Pendidikan Indonesia; 2014.
12. Kahnamoei R, Maleki, Nasirzadeh. The Effects of Cigarette Smoking on Plasma MDA and Tac in University Students. *Indian J Fundam Appl Life Sci*. 2014;4(3):329–33.
13. Cano M, Thimmalappula R, Fujihara M, Nagai N, Sporn M, Wang AL, et al. Cigarette smoking, oxidative stress, the anti-oxidant response through Nrf2 signaling, and Age-related Macular Degeneration. *Vision Res* [Internet]. Elsevier Ltd; 2010;50(7):652–64. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L50653094> <http://dx.doi.org/10.1016/j.visres.2009.08.018> [http://novacat.nova.edu:4550/resserv?sid=EMBASE&issn=00426989&id=doi:10.1016%2Fj.visres.2009.08.018&atitle=Cigarette+smoking%](http://novacat.nova.edu:4550/resserv?sid=EMBASE&issn=00426989&id=doi:10.1016%2Fj.visres.2009.08.018&atitle=Cigarette+smoking%20)
14. Jafari N, Hintzen RQ. The Association Between Cigarette Smoking and Multiple Sclerosis. *J Neurol Sci* [Internet]. Elsevier B.V.; 2011;311(1-2):78–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21975015>
15. Venkataraman S, Schafer FQ, Buettner GR. Detection of Lipid Radicals Using EPR. *Mary Ann Liebert, Inc*. 2004;6(3).
16. Arief S. Radikal Bebas. *J Pediatr Unair*. 2012;1:1–9.
17. Marwan, Widjajanto E, Karyono S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Kadar GSH, MDA, Jumlah serta Fungsi Sel Makrofag Alveolar Paru Tikus Wistar yang Diapapar Asap Rokok Kronis. *J Kedokt Brawijaya*. 2005;21(3).

18. Shah R, Kuldeep B. Pharmacognosy and Pharmacology of Nigella Sativa. *Int Res J Pharm.* 2011;2(11):36–9.
19. Khan N, Sultana S. Inhibition of Two Stage Renal Carcinogenesis, Oxidative Damage and Hyperproliferative Response by Nigella sativa. *Eur J Cancer Prev [Internet].* 2005 Apr [cited 2016 Jan 5];14(2):159–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15785320>
20. Rahmawati B, Mahajoeno E. Variation of Morphology, Isozymic and Vitamin C Content of Dragon Fruit Varieties [Internet]. *Nusantara Bioscience.* 2009 [cited 2016 Jun 5]. p. 45–7. Available from: <http://jurnal.pasca.uns.ac.id/index.php/nubios/article/view/39>
21. Stipanuk MH, Caudill MA. *Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition.* New York; 2000. 904-5 p.
22. Michaud DS, Giovannucci EL, Ascherio A, Rimm EB, Forman MR, Sampson L, et al. Associations of Plasma Carotenoid Concentrations and Dietary Intake of Specific Carotenoids in Samples of Two Prospective Cohort Studies using a new Carotenoid Database. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet].* 1998 Apr [cited 2016 Jun 5];7(4):283–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9568782>