

PENURUNAN STRES OKSIDATIF SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) PADA TIKUS MODEL FIBROSIS HATI

¹Fathiyah Safithri, ²Arina Nuril Fauziyah, ¹Diah Hermayanti

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang

²Pendidikan Dokter Universitas Muhammadiyah Malang

Email : fathiyhsafithri@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit fibrosis hati merupakan *outcome* dari semua jejas hati kronik, dengan manifestasi berupa jaringan parut pada area jejas, hilangnya arsitektur jaringan dan kegagalan fungsi hati. Stres oksidatif berperan penting dalam patogenesis fibrosis hati. Radikal bebas menyebabkan peroksidasi lipid membran sel dan menghasilkan *malondialdehid* (MDA). Terapi antioksidan diduga memberikan efek menghambat progresifitas kerusakan hati. Biji jintan hitam (*Nigella sativa* Linn) mengandung antioksidan, antara lain berupa *thymoquinon*, asam linoleat dan asam oleat. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antioksidan ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* Linn) terhadap tikus model fibrosis hati, dengan parameter berupa kadar Malondialdehid (MDA) hati. Metode penelitian menggunakan *true experimental* dengan *post test only control group design*. Sampel sebanyak 30 tikus yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok normal diberi 1 ml/KgBB *corn oil* i.p. lalu dilanjutkan pemberian *corn oil* 1 ml/KgBB/hari p.o. Satu kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan diinduksi CCl₄ 1ml/kgBB i.p 3 kali/minggu selama 8 minggu. Pada minggu ke-9, ketiga kelompok perlakuan diberi ekstrak biji jintan hitam dengan dosis berturut-turut 1,2; 2,4; dan 4,8 g/kgBB/hari selama 30 hari. Selanjutnya tikus dibedah, diambil jaringan hatinya dan dihitung kadar MDA hati. Pemberian ekstrak *N. sativa* dapat menurunkan kadar MDA hati ($p=0,00$) dan makin besar dosis *N. sativa*, kadar MDA hati makin rendah ($r = -0,614$). Diduga bioaktif ekstrak *N. sativa* meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen dan menghambat peroksidasi lipid.

Kata kunci : ekstrak *N. sativa*, MDA hati, tikus, fibrosis hati.

ABSTRACT

Liver fibrosis is the outcome of all chronic liver injury, with manifestations of scarring in the area of lesion, loss of tissue architecture and failure of liver function. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of liver fibrosis. Free radicals cause lipid peroxidation of cell membranes and produce malondialdehyde (MDA). Antioxidant therapy inhibit the progression of liver damage. Black cumin seeds (*Nigella sativa* Linn) contains antioxidants, which include thymoquinon, linoleic acid and oleic acid. This study was conducted to prove the antioxidant effect of *N. sativa* extract in rat model of liver fibrosis, with parameters such as concentration levels of malondialdehyde (MDA) in the liver. The research method using a true experimental with post test only control group design. A sample of 30 rats were divided into 5 groups. Normal group were given 1 ml / kgBW corn oil i.p. then continued provision of corn oil 1 ml / kgBW / day p.o. One control group and three treatment groups CCl₄ induced 1ml / kg i.p 3 times / week for 8 weeks. At 9th week, all of three treatment groups were given *N. sativa* extract with successive doses of 1.2; 2.4; and 4.8 g / kg / day for 4 weeks. Furthermore, rats dissected, taken liver organ and liver MDA calculated. *N. sativa* extract can reduce levels of liver MDA ($p = 0.00$) and the larger the dose of *N. sativa*, the lower liver MDA levels ($r = -0.614$). Allegedly bioactive extract of *N. sativa* increases endogenous antioxidant enzyme activity and inhibits lipid peroxidation.

Keyword : *N. sativa* extract, MDA liver, rats, liver fibrosis

LATAR BELAKANG

Penyakit fibrosis hati merupakan *outcome* dari semua jejas hati kronik, dengan manifestasi berupa deposisi protein matrik ekstraseluler yang menghasilkan jaringan parut pada area jejas, hilangnya arsitektur jaringan dan kegagalan fungsi hati (Henderson and Iredale, 2007). Stres oksidatif berperan penting dalam patogenesis fibrosis hati. Radikal bebas merusak komponen seluler, antara lain terjadi peroksidasi lipid membran sel yang menghasilkan metabolit aldehid yang toksik dan reaktif yaitu *malondialdehid* (MDA) (Singal, 2011). Terdapat hubungan antara kadar MDA dan derajat kerusakan hati, yaitu makin berat kerusakan hati maka kadar MDA makin tinggi (Aksoy, 2003). Fibrosis hati yang berlangsung terus secara progresif akan berakhir sebagai sirosis hati, yang ditandai dengan pergantian progresif sel hati fungsional oleh sel hati non fungsional (Czaja, 2014).

Sirosis hati menjadi penyebab kematian dengan urutan ke-12 di Amerika Serikat, menyebabkan 29.165 kematian di tahun 2007 dengan angka mortalitas 9,7 per 100.000 orang (Starr, 2011), sedangkan di Eropa, sirosis hati menyebabkan 170.000 kematian setiap tahunnya (Blachier, 2013). Faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya fibrosis hati antara lain adalah virus hepatitis C, hepatitis B, hepatitis D, alkohol, racun, dan obat. Hepatitis C dan alkohol merupakan penyebab terbanyak (Esparza, 2015). Patomekanisme utama terjadinya fibrosis hati adalah melalui stres oksidatif dan inflamasi. Virus hepatitis-C menyebabkan apoptosis sel hati dan kerusakan mitokondria, sehingga menyebabkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di hati meningkat (Lach, 2014). Dengan adanya apoptosis dan peningkatan ROS, sel Kupffer akan teraktivasi. Sel Kupffer yang teraktivasi mengeluarkan mediator *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) sebagai agen fibrogenik serta menginduksi peningkatan ROS yang meningkatkan aktivasi sel stelata (*Hepatic Stellate Cells* /HSCs). Pada kerusakan hati, HSCs akan berproliferasi, membesar dan berubah bentuk menjadi sel yang mirip miofibroblas. Sel HSCs ini memproduksi kolagen dalam jumlah besar, dan selanjutnya berkembang menjadi jaringan fibrosis dan sirosis pada hati (Bataller, 2005). Radikal bebas seperti superoksida dan radikal hidroksil, dapat menyebabkan kerusakan pada komponen seluler

antara lain berupa peroksidasi protein, asam nukleat, asam amino bebas, dan lipoprotei

tein. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan oksidatif lemak tak jenuh ganda (PUFA) pada membran sel dan menghasilkan metabolit aldehid yang toksik dan reaktif, yang disebut sebagai malondialdehid (MDA). MDA ini sering digunakan sebagai indeks peroksidasi lipid (Aksoy, 2003; Shimizu, 2012).

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa antioksidan (vitamin E dan selenium) dapat mengurangi progresifitas fibrosis hati pada tikus model fibrosis hati (Hayani, 2011). *Black cumin* atau jintan hitam (*Nigella sativa* L) mengandung beberapa senyawa aktif, antara lain adalah *thymoquinone* (30%-48%), *thymohydro-quinone*, *dithymoquinone*, *p-cymene* (7%-15%), *carvacrol* (6%-12%), *4-terpineol* (2%-7%), *t-anethol* (1%-4) (Ahmad, 2013). *Thymoquinone* mempunyai efek proteksi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif (Abdelmequid, 2010). *Thymoquinone* bekerja menghambat stres oksidatif dengan meningkatkan aktivitas enzim *Super Oxide Dismutase* (SOD), enzim *glutathione* dan menghambat reaksi lipid peroksidase (Sogut, 2008). *Thymoquinone* terbukti secara signifikan menghambat peningkatan kadar MDA kolon pada tikus model *Necrotizing enterocolitis* (NEC) (Tayman, 2012). Begitu juga pada penelitian yang dilakukan oleh Fouda *et al*, 2008 membuktikan bahwa *Thymoquinone* menghambat peningkatan kadar MDA ginjal pada tikus yang diinduksi HgCl₂. Selain itu, *N. sativa* juga mengandung *flavonoid* dan asam lemak di antaranya *linoleic acid* dan *oleic acid*. *Linoleic acid* dan *oleic acid* memiliki efek menghambat reaksi lipid peroksidase (Sultan, 2009). *Flavonoid* bertindak sebagai donor elektron yang merupakan target dari radikal bebas (Kumar, 2007).

Saat ini belum tersedia terapi standar untuk fibrosis hati. Eliminasi faktor penyebab fibrosis hati merupakan tindakan yang efektif untuk menekan progresifitasnya. Pada sirosis yang sudah mengalami komplikasi, transplantasi hati merupakan terapi paling efektif (Arthur, 2002). Terapi antioksidan diduga memberi keuntungan berupa hambatan progresifitas fibrosis menuju sirosis hati. Penelitian sebelumnya telah membuktikan efek proteksi *N. sativa* terhadap hepar. Pada penelitian ini, peneliti meneliti efek kuratif ekstrak *N. sativa* menghambat progresifitas fibrosis hati pada tikus model fibrosis hati yang diinduksi CCl₄. Hambatan progresifitas

ditandai dengan penurunan kadar Malondialdehid (MDA) di hati.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan desain *posttest only control group design*

Pembuatan Ekstrak *N. sativa*

Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) dicuci dan diblender hingga halus kemudian direndam dalam etanol 90%, digoyang menggunakan *shaker* selama 20 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya dievaporasi untuk menguapkan etanol sehingga didapatkan ekstrak *N. sativa* yang bebas ethanol.

Pembuatan Larutan CCl₄

CCl₄ dilarutkan dalam *corn oil* di dalam *beaker glass* dengan perbandingan 1:1, sehingga diperoleh konsentrasi 10%, kemudian mengaduk larutan hingga tercampur rata.

Perlakuan pada Tikus Wistar

Tikus ditimbang berat badannya kemudian dimasukkan ke dalam kandang yang berisi sekam yang ditutup dengan kawat. Pada tahap persiapan dilakukan pemeliharaan tikus jantan selama 7 hari. Setelah 7 hari tikus dikelompokkan secara *random* (acak) kemudian diberi label pada masing-masing kandang sesuai perlakuan yaitu normal, kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3. Pada kelompok normal diberi 1 ml/KgBB *corn oil* i.p. lalu dilanjutkan pemberian *corn oil* 1 ml/KgBB/hari p.o.. Kelompok kontrol, tikus jantan diinjeksi CCl₄ i.p 3 kali/minggu selama 8 minggu kemudian dilanjutkan dengan pemberian *corn oil* selama 4 minggu. Setelah induksi CCl₄ selama 8 minggu berakhir, pada ketiga kelompok perlakuan dilanjutkan pemberian ekstrak *N. sativa* p.o setiap hari selama 4 minggu dengan dosis berturut-turut 1,2; 2,4; dan 4,8 g/kgBB/hari. Setelah perlakuan selesai (minggu ke-12) tikus dimatikan, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil organ hati dan selanjutnya dilakukan pengukuran kadar MDA hati

Pengukuran Kadar MDA Hati

Organ hati dengan berat 1 gram dimasukkan ke dalam mortar dingin dan digerus hingga halus. Kemudian 500 µL NaCl 0,9% ditambahkan dan dilakukan homogenasi. Homogenan diambil dan dipindahkan ke tabung ependrof. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi selama 20 menit dan diambil supernatannya. Supernatan sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 550 µL Na Thio 1% dan dihomogenkan kembali. Setelah itu disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit, dipanaskan dalam *waterbath* 100^o C selama 30 menit. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (λ maks = 532 nm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rerata kadar MDA hati tikus wistar pada masing-masing kelompok tampak pada tabel di bawah ini

Kelompok	Rerata kadar MDA (ng/mg) ± Standar deviasi	
	Mean	SD
Normal	203.5	± 12.19
Kontrol (Induksi CCl ₄)	244	± 10.37
P1 (Induksi CCl ₄ +NS 1,2)	220	± 10.45
P2 (Induksi CCl ₄ +NS 2,4)	241	± 20.77
P3 (Induksi CCl ₄ +NS 4,8)	201	± 15.28

Tabel 1 Efek Pemberian *N. sativa* terhadap Rerata Kadar MDA Hati

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata kadar MDA hati kelompok kontrol (kelompok tikus yang diinduksi CCl₄) dan perlakuan pertama (kelompok tikus yang diinduksi CCl₄ dan kemudian

mendapat ekstrak *N. sativa* 1,2g/kgBB/hari) dan kedua (kelompok tikus yang diinduksi CCl_4 dan kemudian mendapat ekstrak *N. sativa* 2,4 g/kg/hari) lebih tinggi daripada kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa induksi CCl_4 menyebabkan peningkatan rerata kadar MDA hati.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa rerata kadar MDA hati kelompok perlakuan lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak *Nigella sativa* dengan dosis 1,2 g/kgBB/hr, 2,4 g/kgBB/hr, 4,8 g/kgBB/hr dapat menurunkan kadar MDA hati pada tikus yang diinduksi CCl_4 .

Tabel 1 menunjukkan bahwa di antara ketiga dosis ekstrak *N. sativa*, kelompok tikus dengan dosis ekstrak *N. sativa* 4,8g/kgBB/hari yang mempunyai rerata kadar MDA hati yang paling rendah dan mendekati rerata MDA hati kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *N. sativa* dosis 4,8 g/kgBB/hari mampu menurunkan rerata kadar MDA hati hingga mencapai rerata MDA hati yang normal. Uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA hati yang signifikan antar kelompok penelitian ($p=000$). Uji Pearson menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif yang kuat antara dosis ekstrak *N. sativa* dengan rerata MDA hati ($r=-0,614$).

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, pemberian dosis ekstrak *N. sativa* dengan dosis 1,2 g/kgBB/hr, 2,4 g/kgBB/hr, 4,8 g/kgBB/hr dapat menurunkan kadar MDA hati pada tikus model fibrosis hati. Turunnya kadar MDA hati menunjukkan kerusakan hati akibat CCl_4 dapat diperbaiki dengan pemberian ekstrak *N. sativa*. Perbaikan kerusakan hati (fibrosis hati) kemungkinan karena *N. sativa* mengandung beberapa bioaktif (thymoquinone, asam oleat dan asam linoleat) yang bertindak sebagai antioksidan. Pemberian antioksidan pada fibrosis hati dapat memperlambat progresifitas fibrosis awal menuju sirosis hati (Aksoy, 2003; Ha, 2010; Medina, 2005). *Thymoquinone* terbukti mempunyai efek protektif pada sel terhadap kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif (Abdelmequid, 2010; Fouda, 2008). *Thymoquinone* menghambat stres oksidatif dengan cara meningkatkan aktivitas enzim *Super Oxide Dismutase* (SOD), enzim *glutathione* dan menghambat reaksi lipid peroksidase (Sogut, 2008). *Thymoquinone*

terbukti dapat menurunkan kadar MDA kolon secara signifikan pada tikus dengan induksi model *Necrotizing enterocolitis* (NEC) (Tayman, 2012).

Asam linoleat dan asam oleat memiliki efek antioksidan yang dapat menghambat reaksi peroksidasi lipid (Sultan, 2009). Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dengan bertindak sebagai donor elektron yang merupakan target dari radikal bebas (Kumar, 2007).

Penurunan MDA berkaitan dengan peningkatan *TNF-Related Apoptosis-Induced Ligand* (TRAIL), dimana TRAIL ini berfungsi melakukan apoptosis pada sel HSCs, sehingga miofibroblas tidak akan terbentuk dan terjadilah penurunan produksi ECM dan kolagen (Herr, 2012). Penurunan produksi ECM dan kolagen mengawali proses regresi fibrosis. Lambat laun akan diikuti dengan proses supresi aktivitas *tissue-inhibitory matrix metalloproteinase* (TIMP) hepatic yang selanjutnya akan diikuti oleh eliminasi miofibroblas hepatic melalui apoptosis, *senescence*, atau kembali menjadi *quiescent*. Ekspresi TIMP menurun sehingga terjadi peningkatan aktivitas *matrix metalloproteinase* (MMP) dan kolagen akan didegradasi (Bataller and Brenner, 2005; Mallat and Lotersztajn, 2013). Penurunan penumpukan ECM dan kolagen di hati akan memperlambat progresifitas fibrosis awal menjadi sirosis (Moore, 2012).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif yang kuat antara dosis ekstrak *N. sativa* dengan rerata MDA hati ($r=-0,614$). Makin besar dosis *N. sativa*, maka makin rendah rerata MDA hati. Makin besar dosis *N. sativa*, makin besar pula kandungan bioaktif antioksidannya, sehingga makin besar pula kemampuan memperbaiki kerusakan hati (regresi fibrosis hati) dan memperlambat progresifitas fibrosis awal menuju sirosis (Medina, 2005; Li, 2015).

Oksidatif stres yang disebabkan oleh CCl_4 menyebabkan terjadinya peningkatan ROS dan produknya yaitu MDA (Ayala, 2014). Jumlah oksidatif stress dalam tubuh dipengaruhi oleh keseimbangan antara induksi stres oksidatif dengan faktor perbaikan yang terjadi. Perbaikan yang terjadi dilakukan oleh enzim endogen seperti superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) dan glutathione (GSH). Enzim-enzim tersebut terbukti memproteksi sel dari peroksidase lipid (Masubuchi, 2007). Pada penelitian ini belum dikaji adakah hubungan

pemberian ekstrak *N sativa* dengan aktivitas enzim-enzim tersebut.

Hepar mempunyai kemampuan regenerasi sangat tinggi. Regresi fibrosis dapat terjadi secara endogen yang ditunjukkan dengan penurunan ekspresi TIMP-1 dan peningkatan aktivitas MMP-13. Menurunnya kadar TIMP-1 menyebabkan terjadinya degradasi jaringan fibrotik oleh MMP-13 semakin besar (Henderson and Iridale, 2007)

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* terbukti dapat menurunkan kadar MDA hati pada tikus model fibrosis hati. Akan tetapi, pada penelitian ini masih belum dapat diketahui mekanisme kerja yang pasti dari ekstrak *N sativa* sehingga dapat memberikan efek perbaikan terhadap kerusakan hati yang ditandai dengan penurunan kadar MDA.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*.Linn) berpengaruh terhadap rerata kadar MDA hati pada tikus model fibrosis hati ($p=0,000$, $r = -0,614$) dan dosis ekstrak *N.sativa* 4,8 g/kgBB/hari memberikan efek penurunan rerata MDA hati yang terbesar.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme kerja *N sativa* dalam memberikan efek perbaikan terhadap kerusakan hati, pengaruh *N sativa* terhadap kemampuan regenerasi hati secara endogen, khususnya terhadap enzim-enzim yang bertindak sebagai antioksidan endogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmeguid, E.N., Fakhoury, R., Kamal, M.S., *et al.* 2010. *Effect of Nigella sativa and Thymoquinone on Biochemical and Subcellular Changes in Pancreatic α Cells of Streptozotocin-induced Diabetic Rats.* Alexandria University : Faculty of Science, pp. 256-266.
- Ahmad, A., Asif, H., Mohd, M., Khan, S.A., Najmi, A.K., *et. al.* 2013. *A Review on Therapeutic Potential of Nigella Sativa : A Miracle Herb.* Asian Pacific Journal, 3(5), pp. 337-352.
- Aksoy H, koruk M, Akcay F, 2003, The Relationship Between Serum Malondialdehyde and Ceruloplasmin in Chronic Liver Disease, Turkish Journal of Biochemistry 28 (2) 32-34
- Arthur, M.J. 2002. *Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis* Gastroenterology, 122:1525–1528.
- Ayala, A., Munoz, F. Mario., Arguelles, S. 2014. *Lipid Peroxidation : Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Neonal.* University of Seville : Department of Biochemistry and Molecular Biology, Spain, pp. 1-31.
- Bataller, R., Brenner, A.D. 2005. *Liver Fibrosis.* Department of Medicine, Columbia University, New York, USA, pp. 209-218.
- Blachier, M., Leleu, H., Radosavljevic, P.M., Valla, C., *et al.* 2013. *The burden of liver disease in Europe : A review of available epidemiological data.* Journal of Hepatology, pp. 593-608.
- Bray,T., Bettger, W.J.1990. *The physiological role of zinc as an antioxidant* Free Radical BiolMed; 8(3),pp. 283
- Czaja, J.A. 2014. *Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease.* World Journal of Gastroenterology, 20(10), pp.2515-2524.
- Esparza, M.M., Manzano, T.M., Alcaraz, J.A., *et al.* 2015. *Inflammatory status in human hepatic cirrhosis.* World Journal of Gastroenterology, 21(41), pp.11522-11534.
- Fouda AM, Daba MY, Dahab GM, el-Din OAS, 2008, Thymoquinone Ameliorates Renal Oxidative Damage and Proliferative Response Induced by Mercuric Chloride in Rats, Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 103:109–118
- Ha H, Shin H, Feitelson HA, Yu D, 2010, Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis, World Journal Gastroenterology 28; 16(48): 6035-6043
- Hayani, A.A. 2011. *The Effect of Antioxidant Therapy in Hepatic Fibrosis Induced Experimentally by Bile Duct Ligation in Rats.* University of King Abdul Aziz : Department of Anatomy, Saudi Arabia, 10(6), pp. 764-773.

- Henderson NC and Iredale JP, 2007, Liver fibrosis: cellular mechanisms of progression and resolution, *Clinical Science* 112, 265–280
- Herr, I., Schemmer, P., and Bucher, M. 2012. *On TRAIL to therapeutic intervention in Liver Disease*
- Kumar, D., Lakhanpal, P. 2007. *Quercetin: A Versatile Flavonoid*. Internet Journal of Medical Update, Vol. 2, No. 2, Jul-Dec 2007
- Lach, C.H., Michalak, A. 2014. *Oxidative Stress as a Crucial Factor in Liver Disease*. World J Gastroenterology, 20(25), pp. 8082-8091.
- Li S, Tan H, Wang N, Zhang Z, Lao L, Wong C and Feng Y, 2015, International Journal Molecular Science, 16, 26087–26124
- Mallat A and Lotersztajn S, 2013, Cellular Mechanisms of Tissue Fibrosis. 5. Novel insights into liver fibrosis, *American Journal of Physiology Cell* 305: C789–C799
- Masubuchi, Y., Horie, T. 2007. *Toxicology significance of mechanism-based inactivation of cytochrome – P450 enzymes by drugs*. Critical reviews in toxicology, vol 37, pp 389-412
- Medina J and Moreno-Otero R, 2005, Pathophysiological Basis for Antioxidant Therapy in Chronic Liver Disease, *Drugs* 65 (17): 2445-2461
- Michitaka, K., Nishiguchi, S., Aoyagi, Y., et al. 2009. *Etiology of Liver Cirrhosis in Japan : a Nationwide survey*. J Gastroenterology, 45(1), pp. 86-94.
- Moore, C., and Crocker, S. 2012. *An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology*. The American Journal of Pathology, vol. 180, N0.1, pp.12-15
- Sharma, N.K., Ahirwar, D., Jhade. D., et al. 2009. *Medicinal and Pharmacological Potential of Nigella sativa : A Review*. Ethnobotanical Review, 13 : 946-955
- Shimizu, I., Shimamoto, N., Saiki, K., et al. 2012. *Lipid Peroxidation in Hepatic Fibrosis*, pp.483-492.
- Singal AK, Jampana SC, and Weinman SA, 2011, Antioxidants as Therapeutic Agents for Liver Disease, *Liver Int.*; 31(10): 1432–1448
- Sogut, B., Celik, I., Tuluçe, Y. 2008. *The Effect of Diet Supplemented with Black Cumin (Nigella sativa L.) upon Immune Potential and Antioxidant Marker Enzymes and Lipid Peroxidation in Broiler Chicks*. University of Yuzuncu : Department Biology, 7(10), pp. 1196-1199.
- Starr, S.P., Raines, D. 2011. *Cirrhosis : Diagnosis , Management and Prevention* Louisiana State University Health Sciences, New Orleans, Louisiana.
- Sultan et al. 2009. *Nutritional Profile of Indigenous Cultivar of Black Cumin Seeds and Antioxidant Potential of its Fixed and Essential Oil*
- Tayman, C., Cekmez, F., Kafa, I.M., Canpolat, F.E., Cetinkaya, M., Uysal, S., et al. 2012. *Beneficial effects of Nigella sativa oil on intestinal damage in necrotizing enterocolitis*. J Invest Surg, 25(5): 286-294.