

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTI ASMA ANTARA EKSTRAK
DAN MINYAK (*Nigella sativa* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI
EPITEL BRONKIOLUS MENCIT ASMA**

**COMPARISON OF ANTI ASTHMA ACTIVITY BETWEEN EXTRACT
AND OIL *Nigella sativa* ON HISTOPATHOLOGY
OF BRONCHIAL EPITHELIAL IN ASTHMA MICE**

Dian Arsanti Palupi,^{1,2} Salwa Rahmawati¹, Annis Rahmawaty^{1,2}, Endra Pujiastuti^{1,2}

1. Department of Pharmacy
Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Cendekia Utama
Kudus, Jl. Lingkar Timur
Jl. Raya Pati – Kudus
No.Km. 5, Jepang, Mejobo,
Kabupaten Kudus Jawa
Tengah 59381
2. Ikatan Apoteker Indonesia
Pengurus Cabang Kudus

Submitted: 05-02-2020

Revised: 05-03-2020

Accepted: 08-04-2020

* Corresponding author
Dian Arsanti Palupi

Email:
arsanti_palupi@yahoo.com

ABSTRAK

Asma adalah penyakit inflamasi atau peradangan saluran nafas kronis. Ekstrak dan minyak *Nigella sativa* terbukti dapat digunakan untuk memperbaiki inflamasi saluran nafas. Penelitian ini terdiri dari 7 kelompok. Kelompok normal (K1), kelompok negatif (K2), teofilin (K1), ekstrak *Nigella sativa* (K4), minyak *Nigella sativa* (K5). Pada hari ke-0 mencit disensitisasi dengan OVA 10µg + 1mg Alhidrogel dalam 0,5mL NaCl steril 0,9% secara intraperitoneal, dan hari ke-14 mencit disensitisasi ulang secara intra peritoneal dengan OVA 20µg + 2 mg Alhidrogel dalam 1 mL NaCl steril 0,9%. Pada hari ke-21, ke-23, ke-25 diinhalasi OVA1%. Pada hari ke-26 sampai ke-39 mencit kelompok K3 diberi teofilin 0,338 mg/hari, mencit K4 diberi ekstrak *Nigella sativa* dosis 1 mL/hari dan mencit K5 diberi minyak *Nigella sativa* dosis 0,1mL/hari. Hari ke-40 mencit diterminasi untuk dianalisis ketebalan epitel bronkiolus. Perbandingan antara kelompok ekstrak *Nigella sativa* rata-rata 15,5± 2,22 µm dan minyak *Nigella sativa* rata-rata 14,05± 3,87 µm nilai p =0,488 artinya antara kelompok ekstrak *Nigella sativa* dengan minyak *Nigella sativa* tidak ada perbedaan yang bermakna. secara statistik sebagai antiasthma pada penurunan ukuran ketebalan epitel bronkiolus

Kata kunci: Asma, Ketebalan Epitel Bronkiolus, Ekstrak *Nigella Sativa*, Minyak *Nigella Sativa*

ABSTRACT

Asthma is an inflammatory disease or chronic airway inflammation. *Nigella sativa* extract and oil are proven to be used to improve airway inflammation. This study consisted of 7 groups. The normal group (K1), negative group (K2), theophylline (K1), *Nigella sativa* extract (K4), *Nigella sativa* oil (K5). 0.9% intraperitoneally, and on the 14th day, the mice were re-sensitized intraperitoneally with a 20µg OVA + 2 mg of Alhydrogel in 1 mL of sterile NaCl 0.9%. On the 21st, 23rd, 25th day, the OVA1% was inhaled. On the 26th to 39th day, the K3 mice were given theophylline 0.338 mg/day, K4 mice were given *Nigella sativa* extract at a dose of 1 mL/day and K5 mice were given *Nigella sativa* oil at a dose of 0.1mL / day. On the 40th day, the mice were terminated for analysis of the thickness of the bronchial epithelium. Comparison between groups of *Nigella sativa* extract on average 15.5 ± 2.22 µm and *Nigella sativa* oil average of 14.05 ± 3.87 µm p-value = 0.488 means that between the *Nigella sativa* extract group and *Nigella sativa* oil there was no difference meaningful. statistically as an antiasthma in decreasing the size of the thickness of the bronchial epithelium.

Keywords: Asthma, Bronchial Epithelial Thickness, *Nigella Sativa* Extracts, *Nigella Sativa* Oil

1. PENDAHULUAN

Gejala asma berhubungan dengan aliran udara ekspirasi variabel, yaitu kesulitan menghirup udara keluar dari paru-paru karena bronkokonstriksi (penyempitan saluran napas), penebalan dinding saluran napas, dan peningkatan lendir. Gangguan aliran udara intermiten dan reversibel terjadi dengan 2 cara yaitu inflamasi dan hiperresponsif jalan napas. Inflamasi terjadi pada lumen bagian dalam jalan napas (Global Initiative For Asthma (GINA), 2017).

Hiperresponsif jalan napas terjadi karena konstriksi otot polos bronkial yang lembut yang menyebabkan penyempitan jalan napas kearah luar. Inflamasi jalan napas dapat memicu hiperresponsif bronkiola dan banyak orang dengan asma mempunyai masalah yang sama setiap saat. Obstruksi jalan napas yang makin parah bisa berakibat fatal. (Rogliani, Ora, Puxeddu, & Cazzola, 2016). Riset Kesehatan Dasar RI pada tahun 2013 menyatakan bahwa prevalensi asma di Indonesia cenderung lebih tinggi pada usia 25-34 tahun yaitu 5,7% dan jenis kelamin perempuan 4,6% dan laki-laki 4,4% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2013).

Epitel bronkiolus pada penderita asma lebih tebal dibandingkan dengan epitel bronkiolus normal, hal tersebut dikarenakan pada penderita asma (Palupi & Hasanah, 2018) Epitel pada asma sebagian mengalami sheeding. Mekanisme terjadinya masih diperdebatkan namun demikian mast-cell proteolytic enzyme, eksudasi plasma, oxygen free-radical, eosinophil granule protein, metaloprotease sel epitel dan TNF-alfa dapat menyebabkan sheeding (PDPI, 2003).

Ovalbumin merangsang terjadinya degranulasi sel mast sehingga terlepaslah mediator-mediator yang terkandung dalam sel mast yaitu histamine, leukotrin, eosinofil dan sitokin-sitokin (TNF- α , IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13). Mediator-mediator tersebut menimbulkan inflamasi saluran pernafasan, bronkokonstriksi dan hipersekresi mukus. Eosinofil merupakan sel radang yang jumlah sangat dominan pada inflamasi saluran pernafasan (Baratawidjaja & Rengganis, 2010).

Penggunaan herbal sebagai obat tradisional pada saat ini kian meningkat, karena toleransi yang lebih baik dan minimalnya efek samping dibandingkan dengan obat sintentik. Obat-obatan herbal lebih sering digunakan dalam bentuk kombinasi dari pada dalam bentuk tunggal untuk memperoleh manfaat yang maksimal (F V MANVI, 2011) *Nigella sativa* L. adalah tanaman berbunga tahunan yang berasal dari wilayah Mediterania tetapi telah dibudidayakan di belahan dunia lain seperti Afrika, Asia, dan semenanjung Arab (Akhtar et al., 2012). *Nigella sativa* mengandung berbagai konstituen yang aktif secara farmakologis seperti Thymoquinone, thymohydroquinone, dithymoquinone (Ahmad et al., 2013). Asam lemak *Nigella sativa* dalam fixed oil antara lain asam linoleat 58,5 \pm 0,1% dan asam oleat 23,8 \pm 0,1% (Gharby et al., 2015). Kandungan dari minyak *Nigella sativa* telah diketahui mempunyai efek farmakologi antiinflamasi, antioksidan dan imunomodulator yaitu thymoquinone. Thymoquinone (TQ) memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, antihistamin dan imunomodulator (Paarakh, 2010).

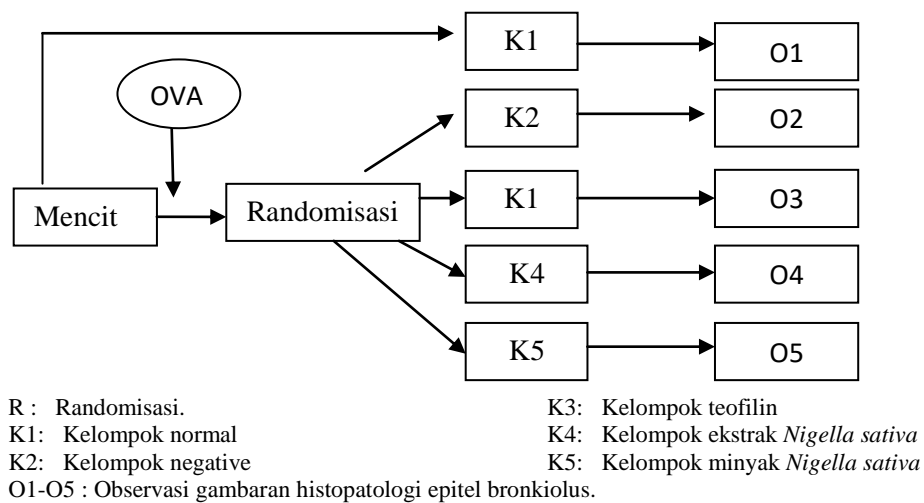
Suplementasi minyak *Nigella sativa* dapat meningkatkan fungsi paru dan menekan inflamasi pada asma terkontrol serta efektif dalam mengendalikan gejala asma dengan memperbaiki fungsi paru, menurunkan eosinofil darah dan serum total IgE pada kelompok

pasien dewasa versus plasebo (Koshak, Li, Emad, Siraj, & Alamoudi Omer, Demerdash Abdulrahman, Qutub Majdy, Pushparaj Peter Natesan, 2017). Kelarutan obat dapat mempengaruhi absorpsi obat yang diberikan secara oral karena akan mempengaruhi penyerapan obat di gastrointestinal (Dara & Husni, 2017). Sediaan cair akan lebih cepat diabsorpsi dibandingkan dengan sediaan padat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara ekstrak *Nigella sativa* yang berbentuk padat dengan minyak *Nigella sativa* yang berbentuk sediaan cair yang diproduksi dengan metode cold pressured terhadap kandungan senyawa kimia dan gambaran histopatologi epitel bronkiolus. Pada penelitian ini ekstrak dan minyak *Nigella sativa* dilakukan skrining senyawa kimia dan selanjutnya dilakukan uji in vivo yaitu uji histopatologi epitel bronkiolus.

2. METODE

Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan sampel mencit betina galur Balb/C. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post-test only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan setelah mendapat *ethical clearance/* persetujuan dari Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/ Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang Ethical Clearence No.60/ II/ 2019/ Komisi Bioetik.



Gambar 1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium terpadu/ *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan uji histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Waktu penelitian : Februari - Mei 2019. Sampel adalah sebagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi. Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit galur Balb/C, jenis kelamin betina yang dibagi menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri 5 ekor mencit.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nebulizer merek omron, canula spuit oral, mikroskop cahaya *olympus*, timbangan analitik, alat pembuatan preparat histopatologi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak *Nigella sativa* produksi PT. Jamu Iboe Jaya Sidoarjo-Indonesia, minyak *Nigella sativa* (*Nigella sativa* L.) merk HABBASYI OIL produksi PT. Habbasyi Niaga Utama Jakarta-Indonesia, Theophylline Anhydrous (Shandong Xinhua Pharmaceutical.China), OVA (Worthington Biochemical Corporation, USA,) CMC Na (Bratachem), Aluminium hidroksida Al(OH)₃, NaCl 0,9%, CMC-Na 0,5%, PBS formalin 10%

Prosedur Penelitian

Identifikasi minyak atsiri dalam ekstrak dan minyak *Nigella sativa* dengan ditambahkan beberapa tetes kloroform dan 5 tetes H₂SO₄ pekat terbentuk warna merah jingga atau ungu. Identifikasi flavonoid ekstrak / minyak *Nigella sativa* ditambah serbuk Magnesium dan 5 tetes HCl pekat terbentuk warna merah/ kuning. Identifikasi alkaloid, ekstrak / minyak *Nigella sativa* ditambah reagen meyer terbentuk endapan putih, dengan reagen wagner terbentuk endapan coklat, dengan reagen dragendorf terbentuk endapan orange/ merah bata. Identifikasi saponin, ekstrak / minyak *Nigella sativa* ditambah air 10 ml, dikocok kuat selama 10 detik terbentuk busa/buih dan pada penambahan HCl 2N busa/ buih tidak hilang. Identifikasi tanin, ekstrak / minyak *Nigella sativa* ditambah pereaksi FeCl₃ 1% terbentuk warna hijau violet atau kehitaman

Pengujian in-vivo ekstrak dan minyak *Nigella sativa* pada mencit asma (Palupi & Hasanah, 2018). Sebelum perlakuan, mencit di aklimatisasi selama 7 hari, mencit tetap diberi makan dan air minum secara ad libitum. Selain kelompok normal, pada hari ke-0 dilakukan sensitisasi secara intra peritoneal dengan 10 µg ovalbumin (OVA) + 1 mg Al(OH)₃ dalam 0,5 mL NaCl 0,9%. Hari ke-14 dilakukan sensitasi ke-2 secara intra peritoneal dengan 20 µg ovalbumin (OVA) + 2 mg Al(OH)₃ yang dilarutkan dalam 1 mL NaCl 0,9% pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hari ke-21, ke-23, ke-25, mencit diinhalasi dengan OVA 1 mg/mL dalam NaCl 0,9% dengan menggunakan alat nebulizer merek omron tipe NU-017 selama 20 menit. Hari ke-26 sampai hari ke-39 mencit diberi teofilin, ekstrak dan minyak *Nigella sativa* sesuai dengan kelompok perlakuan pada waktu yang sama. Kelompok K1 diberi teofilin 1 kali sehari dengan dosis 0,338 mg/hari, kelompok perlakuan K2 diberi ekstrak biji *Nigella sativa* 1 kali sehari dengan dosis 1 mL/hari, kelompok perlakuan K3 diberi minyak *Nigella sativa* 0.1 mL/hari. Pada hari ke-40 mencit dianestesi dengan ketamine 0,1mg/kgBB, dan dilakukan dislokasi leher kemudian diambil paru nya, direndam dalam PBS Formalin 10%. Preparat histopatologi epitel bronkiolus dibuat dengan pengecatan hematoxylin eosin kemudian diamati di bawah mikroskop perbesaran 400x.

Analisis Data

Analisis statistik dilakukan dengan analisis varians satu arah (ANOVA) kemudian dianalisis post hoc test untuk mengetahui beda antar 2 kelompok perlakuan. Data disajikan dengan nilai rata-rata ± SD. Signifikansi didefinisikan pada tingkat p <0,05.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Materi penelitian adalah identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak dan minyak *Nigella sativa*, dan pengukuran ketebalan epitel bronkiolus. Pada Tabel 1, 2, 3 dan 4 berturut-turut menunjukkan hasil analisis kandungan senyawa kimia pada ekstrak dan minyak *Nigella sativa*, analisis statistik normalitas dan homogenitas data ketebalan epitel bronkiolus, analisis statistik rerata, SD, nilai F dan nilai p data ketebalan epitel bronkiolus.

Tabel 1. Hasil Analisis Kandungan Senyawa Ekstrak dan Minyak *Nigella sativa*

Identifikasi	Hasil	Kelompok	
		Ekstrak <i>Nigella sativa</i>	Minyak <i>Nigella sativa</i>
Minyak atsiri	Warna merah jingga	+	+
Flavonoid	Warna kuning merah	+	+
Alkaloid	Terbentuk endapan orange	+	+
Saponin	Terbentuk busa	+	+
Tanin	Warna hijau violet	+	+

Sumber: Data primer yang diolah, 2019

Tabel 2. Normalitas Data Shapiro-Wilk Ketebalan Epitel Bronkiolus

Variabel	Kelompok				
	Normal	Negatif	Teofilin	Ekstrak <i>Nigella sativa</i>	Minyak <i>Nigella sativa</i>
Ketebalan epitel bronkiolus	0,140	0,704	0.787	0,690	0.860

Sumber: data primer 2019, diolah

Berdasarkan Tabel 2 uji normalitas data *shapiro wilk* menunjukkan bahwa ketebalan epitel bronkiolus nilai $p > 0,05$ artinya data berdistribusi normal.

Tabel 3. Homogenitas Ketebalan Epitel Bronkiolus

Levene statistik	df1	df2	Sig.
2,005	4	10	0,170

Sumber: data primer 2019, diolah

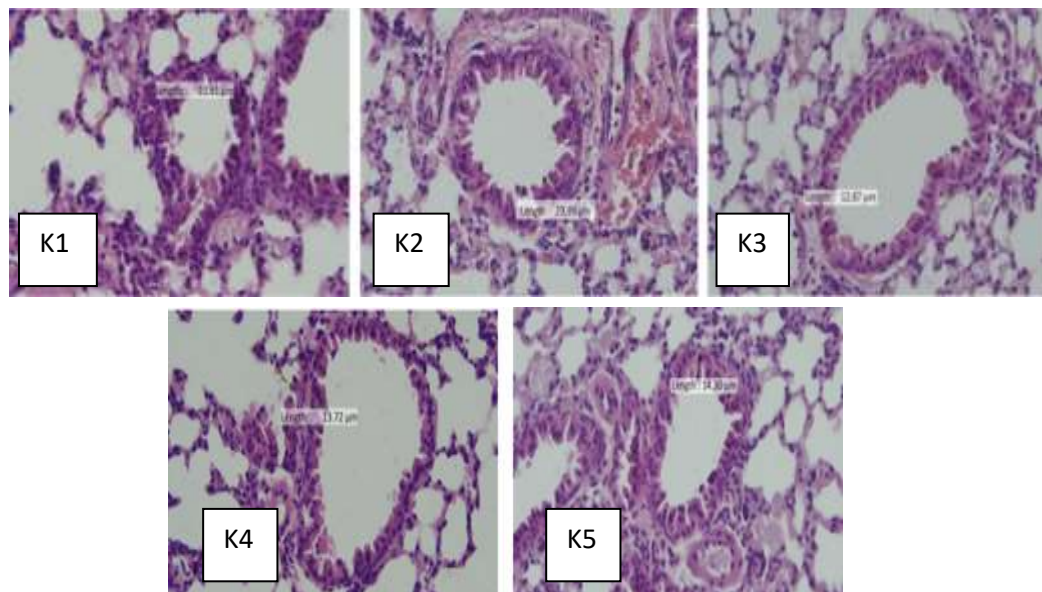
Berdasarkan Tabel 3 uji homogenitas menunjukkan bahwa ketebalan epitel bronkiolus nilai $p > 0,05$ artinya data homogen.

Tabel 4. Rerata, SD, Nilai F dan Nilai p Ketebalan Epitel Bronkiolus

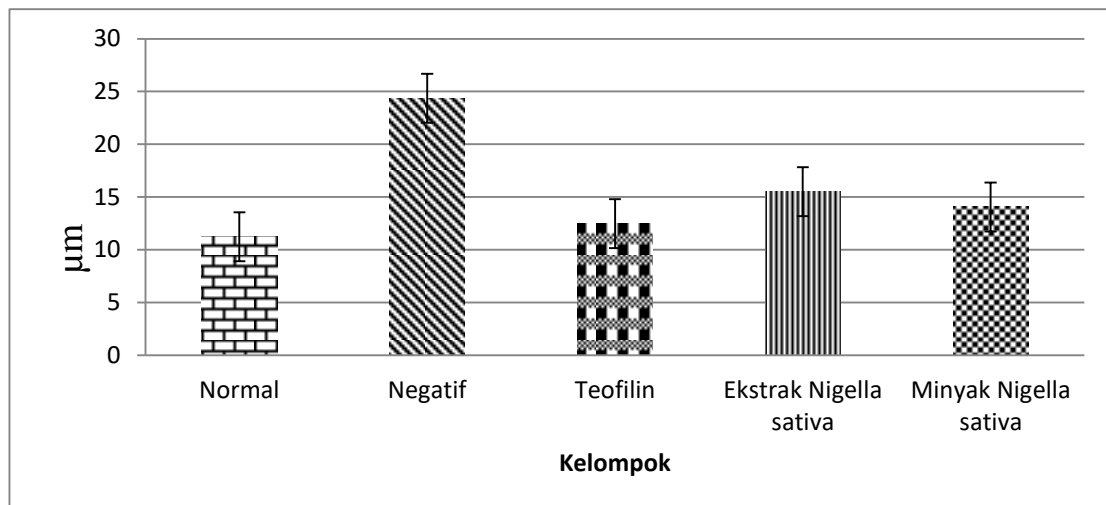
Variabel	Kelompok				
	Normal	Negatif	Teofilin	Ekstrak <i>Nigella sativa</i>	Minyak <i>Nigella sativa</i>
Rerata	11,23	24,35	12,47	15,50	14,05
SD	0,96	0,43	3,11	2,22	3,87
Nilai F	13,184				
Nilai p	0,001				

Sumber: data primer 2019, diolah

Hasil analisis beda rerata di atas menghasilkan nilai F 13,184 dan nilai $p= 0,001$ artinya ada perbedaan yang bermakna ketebalan epitel bronkiolus pada masing masing kelompok penelitian. Kelompok negatif mempunyai nilai rerata paling tinggi dibandingkan dengan kelompok normal, kelompok teofilin, kelompok ekstrak *Nigella sativa* dan kelompok minyak *Nigella sativa*. Pada Gambar 2 dan 3 menunjukkan hasil analisis histopatologi dan ketebalan epitel bronkiolus.



Gambar 2. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Ketebalan Epitel Bronkiolus Pada (K1) Kelompok Normal, (K2) Kelompok Negatif, (K3) Kelompok Teofilin, (K4) Kelompok Ekstrak *Nigella Sativa*. (K5), Kelompok Minyak *Nigella Sativa* dengan Pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin), Perbesaran 400x



Gambar 3. Grafik Rerata Ketebalan Epitel Bronkiolus Mencit (µm) pada Semua Kelompok Perlakuan

Hasil pengamatan histopatologi, yang paling tinggi ada pada kelompok negatif (K2) rata-rata $24,35 \pm 0,43$ µm. Perbandingan antara kelompok negatif (K2) rata-rata $24,35 \pm 0,43$ µm dengan kelompok teofilin (K3) rata-rata $12,47 \pm 3,11$ µm nilai $p=0,001$ artinya antara kelompok negatif dan kelompok teofilin ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok negatif (K2) rata-rata $24,35 \pm 0,4$ µm dengan kelompok ekstrak *Nigella sativa* (K4) rata-rata $15,5 \pm 2,22$ µm nilai $p = 0,001$ artinya antara kelompok negatif dan kelompok ekstrak *Nigella sativa* ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok negatif (K2) rata-rata $24,35 \pm 0,43$ µm dengan kelompok minyak *Nigella sativa* (K5) rata-rata $14,05 \pm 3,87$ µm nilai $p = 0,001$ artinya antara kelompok negatif dan kelompok minyak *Nigella sativa* ada perbedaan yang bermakna.

Pada penelitian sebelumnya, pemberian ovalbumin akan merangsang sel-sel dendrite untuk memproduksi sel Th-2 dan meningkatkan produksi Immunoglobulin E (IgE). Th-2 akan merangsang keluarnya sel-sel inflamasi, dan tingginya kadar Ig E pada permukaan sel mast akan menyebabkan terjadinya degranulasi sel mast sehingga melepaskan mediator-mediator inflamasi. Ovalbumin juga akan merangsang keluarnya sitokin secara langsung berperan dalam *Airway Remodeling* (Sriwahyuni, Risza, & Yuni, 2010). Penelitian ini sejalan dengan penelitian Fehrenbach 2017 bahwa kerusakan epitel bronkiolus dijumpai pada penderita asma ringan sampai dengan asma persisten. Hal tersebut menunjukkan bahwa inflamasi ringan yang dikarenakan kerusakan epitel merupakan proses awal kerusakan mukosa dan terjadinya *Airway remodeling* yang merupakan perubahan struktur pada asma yang terdiri dari beberapa komponen antara lain metaplasia epitel dengan peningkatan ketebalan epitel, hiperplasia sel goblet dan peningkatan sekresi mukus, fibrosis dengan deposisi abnormal matriks ekstraseluler pada membran basalis dan sub mukosa, peningkatan ketebalan otot polos karena hiperplasia otot polos dan miofibroblast, dan angiogenesis. (Fehrenbach, Wagner, & Wegmann, 2017). Hasil uji histopatologi pada bronkiolus mencit asma menjelaskan bahwa proses yang mempengaruhi saluran pernapasan sentral dan perifer

seperti perubahan seluler akibat infiltrasi sel inflamatori dan perubahan struktural dinding saluran pernapasan sebagai respon untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat inflamasi.

Perbandingan antara kelompok teofilin (K3) ketebalan epitel bronkiolus rata-rata $12,47 \pm 3,11 \mu\text{m}$ dengan kelompok ekstrak *Nigella sativa* (K4) dengan ketebalan epitel bronkiolus rata-rata $15,5 \pm 2,22 \mu\text{m}$ nilai $p=0,165$, artinya antara kelompok teofilin dan kelompok ekstrak *Nigella sativa* tidak ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok teofilin (K3) diperoleh hasil ketebalan epitel bronkiolus rata-rata $12,47 \pm 3,11 \mu\text{m}$ dengan kelompok minyak *Nigella sativa* (K5) dengan ketebalan epitel bronkiolus rata-rata $14,05 \pm 3,87 \mu\text{m}$ nilai $p=0,454$, artinya antara kelompok teofilin dan kelompok minyak *Nigella sativa* tidak ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok ekstrak *Nigella sativa* (K4) rata-rata $15,5 \pm 2,22 \mu\text{m}$ dan minyak *Nigella sativa* (K5) rata-rata $14,05 \pm 3,87 \mu\text{m}$ nilai $p=0,488$ artinya antara kelompok ekstrak *Nigella sativa* dengan minyak *Nigella sativa* tidak ada perbedaan yang bermakna.

Thymoquinone (TQ) dalam *Nigella sativa* dapat menghambat inflamasi saluran pernafasan, menurunkan jumlah total leukosit, makrofag, eosinofil, kadar Interleukin (IL) yaitu IL-4, IL-5, IL-13 di BALF, kadar serum total IgE, kadar IgG1, peningkatan *Interferon* (IFN)- γ dan pemulihan keseimbangan Th1/Th2. (Balaha, Tanaka, Yamashita, Abdel Rahman, & Inagaki, 2012).

Perubahan struktur yang terjadi pada *airway remodeling* meliputi hiperplasi dan metaplasia epitel bronkiolus, fibrosis subepitel, hiperplasi sel goblet, hiperplasi dan hipertrofi otot polos, serta peningkatan jumlah pembuluh darah (*angiogenesis*). Penebalan dinding saluran napas ini diduga berkaitan dengan *airway hyperresponsiveness* (AHR) dan resistensi terapi serta tingkat keparahan asma. (Halwani, Al-Muhsen, & Hamid, 2010).

4. KESIMPULAN

Antara ekstrak *Nigella sativa* dan minyak *Nigella sativa* tidak ada perbedaan pada kandungan senyawa kimia dan tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik sebagai antiasma dalam menurunkan ketebalan epitel bronkiolus pada mencit asma. Dengan nilai $p=0,488$ atau ($p>0,05$)

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami haturkan kepada Ikatan Apoteker Indonesia (IAI) Pengurus Cabang Kudus yang telah mendanai publikasi ini.

6. KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini

7. DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, M., Maikiyo, A. M., Khanam, R., Mujeeb, M., Aqil, M., & Najmi, A. K. (2012). Ameliorating effects of two extracts of *Nigella sativa* in middle cerebral artery occluded rat.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. Ali, Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1)

- Balaha, M. F., Tanaka, H., Yamashita, H., Abdel Rahman, M. N., & Inagaki, N. (2012). Oral Nigella sativa oil ameliorates ovalbumin-induced bronchial asthma in mice. *International Immunopharmacology*, 14(2), 224–231.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. (2013). Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) 2013. Laporan Nasional 2013, 1–384. <https://doi.org/10.24127/riskesmas2013> Desember 2013
- Baratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. (2010). *Imunologi Dasar* (8th ed.). Jakarta Indonesia: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2010.
- Dara, A. I., & Husni, P. (2017). Teknik Meningkatkan Kelarutan Obat. *Farmaka Volume 15 Nomor 4*, 4(Desember 2017), 1–15.
- F V Manvi, B. K. N. A. S. S. (2011). Pharmacological Screening of Combined Extract of *Annona Squamosa* and *Nigella Sativa* F V Manvi , B K Nanjawade and Sanjiv Shing. *International Journal of Pharma and Bio Sciences Research*, 2, 520–529.
- Fehrenbach, H., Wagner, C., & Wegmann, M. (2017). Airway remodeling in asthma: what really matters. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2566-8>
- Global Initiative For Asthma (GINA). (2017). Global Strategy For Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma, <http://ginasthma.org/2017-gina-report-global-strat>. <https://doi.org/10.1183/09031936.00138707>
- Gharby, S., Harhar, H., Guillaume, D., Roudani, A., Boulbaroud, S., Ibrahim, M., Charrouf, Z. (2015). Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14(2), 172–177.
- Halwani, R., Al-Muhsen, S., & Hamid, Q. (2010). Airway remodeling in asthma. *Current Opinion in Pharmacology*, 10(3), 236–245.
- Koshak, A., Li, W., Emad, K., Siraj, W., & Alamoudi Omer, Demerdash Abdulrahman, Qutub Majdy, Pushparaj Peter Natesan, H. M. (2017). *Nigella sativa* Supplementation Improves Asthma Control and Biomarkers: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Phytotherapy Research*, 31(3), 403–409.
- Paarakh, P. M. (2010). *Nigella sativa* Linn.- A comprehensive review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1(4), 409–429.
- Palupi, D. A., & Hasanah, F. N. (2018). Pengaruh Pemberian Suplementasi Minyak Zaitun Terhadap Penurunan Ketebalan Epitel Bronkus Pada Menct Asma Yang Diinduksi Ovalbumin. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2), 109–115.
- PDPI. (2003). Asma. Pedoman Diagnosis Dan Penatalaksanaan Asma Di Indonesia, 105.
- Rogliani, P., Ora, J., Puxeddu, E., & Cazzola, M. (2016). Airflow obstruction: is it asthma or is it COPD? *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 11, 3007–3013.
- Sriwahyuni, E., Risza, Q., & Yuni, A. . (2010). Black Seed (*Nigella sativa*) Extract Prevent The Thickening of Bronchus and Increase The Circumference Of Bronchial Lumen in Asthma Model Mice. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(1), 37–42.