Exact Papers in Compilation
Vol. 7 No. 2 Mei 2025, Halaman 70 - 75
E-ISSN: 2656-0550

Potensi Ekstrak *Ganoderma applanatum* Terhadap Kadar MDA dan Bax pada Mencit (*Mus musculus*) yang Terinduksi *Diethylnitrosamine*

Siti Rahayu[1*], Win Darmanto[2], Sri Puji Astuti Wahyuningsih[3]
Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga
Email: siti.rahayu-2020@fst.unair.ac.id*

ABSTRACT
Ganoderma applanatum polysaccharides have antioxidant properties as a strong biological response for cancer therapy. This study examined the potential of G. applanatum polysaccharide extract on MDA and Bax levels in mice (Mus musculus) induced by DEN. Female mice of the DDY strain were randomly divided into 4 groups (n=6). DEN was given intraperitoneally twice a week, then doxorubicin in the positive control and polysaccharide extract in the treatment for one month orally. The research method was carried out by comparing KN given water; K- given DEN 100 mg/kg BW; K+ given DEN 100 mg/kg BW and doxorubicin 10 mg/kg BW; and P given DEN 100 mg/kg BW and G. applanatum polysaccharide extract 150 mg/kg BW. From the statistical analysis of the ANOVA test followed by the Duncan test, it was found that administration of G. applanatum polysaccharide extract compared to K- did not show any significant difference in MDA and Bax levels. The experimental results data are as follows: KN showed MDA levels of 1.62±0.28 nmol/mL and Bax 4.41±2.14 ng/mL. K- MDA levels were 1.58±0.11 nmol/m and Bax 3.91±1.84 ng/mL. K+ MDA levels were 1.75±0.21 nmol/mL and Bax 4.30±1.61 ng/mL. P MDA levels were 1.74±0.29 nmol/mL and Bax 2.28±1.27 ng/mL.

***Keywords**: antioxidant, Bax, Ganoderma applanatum, MDA*

ABSTRAK
Polisakarida *Ganoderma applanatum* memiliki sifat antioksidan sebagai respon biologis yang kuat untuk terapi kanker. Penelitian ini menguji potensi ekstrak polisakarida *G. applanatum* terhadap kadar MDA dan Bax pada tikus (*Mus musculus*) yang diinduksi DEN. Tikus betina galur DDY dibagi secara acak menjadi 4 kelompok (n=6). DEN diberikan secara intraperitoneal dua kali seminggu, kemudian *doxorubicin* sebagai kontrol positif dan ekstrak polisakarida sebagai perlakuan selama satu bulan secara oral. Metode penelitian dilakukan dengan membandingkan KN yang diberi air; K- yang diberi DEN 100 mg/kg BB; K+ yang diberi DEN 100 mg/kg BB dan doksorubisin 10 mg/kg BB; dan P yang diberi DEN 100 mg/kg BB dan ekstrak polisakarida G. applanatum 150 mg/kg BB. Dari analisis statistik uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan, diperoleh bahwa pemberian ekstrak polisakarida G. applanatum dibandingkan dengan K- tidak menunjukkan perbedaan bermakna kadar MDA dan Bax. Data hasil percobaan sebagai berikut: KN menunjukkan kadar MDA sebesar 1,62±0,28 nmol/mL dan Bax 4,41±2,14 ng/mL. Kadar MDA K- sebesar 1,58±0,11 nmol/m dan Bax 3,91±1,84 ng/mL. Kadar MDA K+ sebesar 1,75±0,21 nmol/mL dan Bax 4,30±1,61 ng/mL. Kadar MDA P sebesar 1,74±0,29 nmol/mL dan Bax 2,28±1,27 ng/mL.

Kata kunci: *Ganoderma applanatum, antioksidan, MDA, Bax*

PENDAHULUAN
Pada bidang farmasi saat ini berkembang sangat cepat produksi obat sintetis sebagai salah satu solusi penanganan penyakit kanker, tetapi kadang berdampak negatif dalam tubuh. Salah satu jenis antibiotik seperti *doxorubicin*, digunakan sebagai agen anti-tumor paling efektif dalam membunuh sel ganas dan menghasilkan regresi tumor dalam berbagai neoplasma manusia. Namun, kegunaan klinisnya dibatasi karena memiliki efek samping antara lain imunosupressi, hepatotoksik, nefrotoksik dan kardiotoksik

(Chaudhary *et al*., 2016 dan Mohebbati *et al*., 2016). Apoptosis meningkat secara signifikan setelah pemberian *doxorubicin*. Temuan ini menunjukkan bahwa *doxorubicin* menginduksi stres oksidatif dan apoptosis yang dimediasi mitokondria. Namun memiliki efek samping dengan mengubah rasio Bcl-2/Bax yang berpengaruh terhadap ekspresi sinyal molekuler berhubungan dengan aktivasi protein anti-apoptosis dan pro-apoptosis. (Puspita, 2016).

Ganoderma applanatum adalah salah satu jenis jamur yang mengandung polisakarida berupa *ß-glukan* berbeda dengan polisakarida yang ditemukan pada makanan berkarbohidrat lainnya. Polisakarida β-glukan berpotensi sebagai antioksidan. Jumlah prooksidan setara dengan jumlah antioksidan apabila kondisi sehat. Jika jumlah prooksidan melebihi antioksidan menyebabkan adanya stres oksidatif yang menimbulkan disfungsi homeostasis ion, aktifitas enzim, integrasi membran rusak atau kematian sel (Reni, 2018). *Diethylnitrosamine* (DEN) salah satu penyebab stres oksidatif yang diberikan secara intraperitoneal dengan konsentrasi 25 mg/kg BB pada mencit usia 15 hari, setelah delapan bulan menunjukkan secara signifikan lebih sedikit perkembangan tumor hati dibandingkan dengan tikus tipe liar (Shirakami *et al*., 2014).

Senyawa antioksidan sangat bermanfaat dalam menangkal ROS yang dapat memicu berbagai penyakit degeneratif diantaranya arteriosklereosis, diabetes, kanker dan juga penuaan dini. Antioksidan menghambat H2O2 untuk menghasilkan ROS. ROS ini dapat mengakibatkan rusaknya DNA dan protein, mengurangi pembentukan MDA, meningkatkan aktivitas superoksida dismutase (SOD) dan menjaga serta memperbaiki sel-sel yang rusak (Zi *et al*., 2018). Tubuh manusia tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis β-glukan sendiri, sehingga untuk mendapatkannya harus diberi asupan dari sumber bahan pangan. Adanya β-glukan yang masuk ke dalam tubuh manusia, secara alami akan dikenali oleh sistem imun kita dan menyebabkan respon kekebalan sehingga berperan sebagai imunomodulator (Synytsya & Novák, 2013).

Istilah apoptosis diartikan sebagai kematian sel yang terprogram, sehingga terjadi perubahan secara struktural akibat adanya stimulus berupa faktor fisiologis atau patologis. Apoptosis mengalami dua mekanisme yaitu: jalur eksternal atau *death receptor* (DR) dan internal atau jalur mitokondria. Berbagai jenis stres seluler menyebabkan anggota proapoptosis dari keluarga protein *B-cell lymphoma* (Bcl)-2, seperti Bax ke membran luar mitokondria dan terjadi pelepasan molekul sitokrom c dari ruang antar membran mitokondria. Pelepasan diperkirakan dimediasi oleh pori-pori di membran mitokondria yang dibentuk oleh Bax. Di sitosol, sitokrom c membentuk kompleks dengan protein sitosol yaitu *apoptotic protease activating factor* (APAF)-1 dan Procaspase-9. Procaspase-9 diaktifkan membentuk caspase-9 dan mengaktifkan caspase-3 yang melakukan respon apoptosis (Karp, 2014).

Banyak penelitian yang membahas kegunaan ekstrak polisakarida dan kemampuannya menginduksi apaptosis sel kanker, namun tinjauan tentang potensinya sebagai antioksidan dan menghambat sel kanker pada jalur apoptosis dengan kontrol kadar Bax belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak polisakarida *G. applanatum* terhadap kadar MDA dan Bax pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi DEN). Untuk keperluan penelitian, digunakan ekstrak polisakarida *G. applanatum* yang diberikan secara oral ke dalam tubuh mencit betina dewasa strain DDY yang sebelumnya diinduksi dengan *diethylnitrosamine* (DEN) secara peritonial di area perut bagian bawah. Senyawa DEN akan menimbulkan respon sistemik yang berpengaruh terhadap perubahan kadar MDA dan Bax dalam serum. Perubahan kadar senyawa tersebut dapat dihitung dengan memakai *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Adapun tujuan operasional pada penelitian ini adalah:

1. Mengetahui apakah ekstrak polikasarida *G. applanatum* berpengaruh terhadap kadar MDA dalam serum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi oleh DEN.
2. Mengetahui apakah ekstrak polikasarida *G. applanatum* berpengaruh terhadap kadar Bax dalam serum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi oleh DEN.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba, Laboratorium Genetika Molekuler Departemen Biologi, FST UNAIR, dan Laboratorium Farmasi UNAIR selama enam bulan. Alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah kandang berupa bak plastik, botol minum, tempat makan dan sekam untuk pemeliharaan mencit. Alat bedah mencit yaitu *dissecting set*, meja bedah, timbangan analitik, sarung tangan, tissue, masker, konika l15 ml steril, alat-alat gelas, *disposable syringe* 1 mL, jarum sonde untuk perlakuan mencit. Tabung falcon, *disposable syringe* 1 mL, ependorf untuk pengambilan sampel darah. *Rotary vacuum evaporator, microplate*, ELISA *reader* untuk mengukur variabel terikat, pengaduk,

alumunium *foil, plastic wrap*, masker, sarung tangan, konikal 15 mL steril, *microplate reader*, *freeze dryer*, tissue, *coverslip* diameter 13 mm, sentrifus. Bahan utama berupa tubuh buah jamur kayu (*G. applanatum*) yang diambil dari daerah Pacet, Mojokerto. Ekstraksi polisakarida jamur *G. applanatum* meggunakan aquades. *Freeze drying* ekstrak membutuhkan *dry ice*, larutan DEN dosis 100 mg/kg BB, dan aquades. Anastesi menggunakan *xylazin* 2% sebanyak 2 mg/kg BB dan ketamin HCL 10% sebanyak 15 mg/kgBB secara intramuskuler. Pelarut sampel *Dimetil Sulfoxide* (DMSO), larutan pencuci *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4. Hewan coba menggunakan mencit betina dewasa strain DDY, berusia 3-4 bulan dengan berat badan berkisar 30-40 g yang diperoleh dari Pusvetma, Surabaya. Obat yang digunakan sebagai kontrol positif adalah *doxorubicin* dosis 10 mg/kg BB. Pembedahan hewan coba menggunakan larutan *xylasin* dan ketamin.

Jenis penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Hewan coba terbagi 4 kelompok, yaitu: Kelompok normal (KN) diberi aquades, kelompok kontrol negatif (K-) diberi DEN 100 mg/kg BB; kontrol positif (K+) diberi DEN 100 mg/kg BB dan *doxorubicin* 10 mg/kg BB; perlakuan (P) diberi DEN 100 mg/kg BB dan ekstrak *G. applanatum* 150 mg/kg BB. Tiap kelompok perlakuan terdiri dari enam ekor mencit (Montgomery, 2001), sehingga total mencit yang digunakan sebanyak 24 ekor.

Prosedur Penelitian

Identifikasi *G. appalantum* dilakukan di Departemen Biologi, FST UNAIR, untuk memastikan bahwa bahan penelitian yang digunakan sudah benar dan valid. Bahan polisakarida diambil dari tubuh buah (basidiocarp), kemudian dicuci menggunakan air mengalir tiga kali. Kemudian dipotong-potong kecil dan tipis lalu dikeringkan dengan sinar matahari pada suhu 30^0C-50^0C selama 14 hari. Setelah kering, digiling sampai menjadi serbuk (Skolastika, 2019). Serbuk *G. applanatum* ditimbang dan direbus menggunakan air pada suhu 60^0C – 65^0C selama 6 jam. Perbandingan serbuk dengan air adalah 1 : 20, kemudian, rebusannya disaring dan endapan yang diperoleh diekstraksi kembali sampai dua kali pada waktu dan suhu yang sama. Filtrat yang diperoleh pada masing-masing ekstraksi dicampur lalu dipanaskan pada suhu 25^0C–30^0C selama 24 jam. *Supernatant* kemudian dilakukan *freeze drying* untuk mendapatkan ekstrak *G. applanatum*.

Proses aklimasi dilakukan selama dua minggu di Laboratorium hewan coba. Kandang mencit menggunakan bak plastik yang ditutupi kawat kasa, diberi sekam, dan botol air minum. Air minum beserta pakannya diberikan secara berlimpah (*ad libitum)* sehari sekali. Satu minggu sekali dilakukan pembersihan kandang dan membersihkan botol air minum. DEN 100 mg/kg BB disuntikkan agar terjadi perubahan pada jaringan kolon dan mendorong pertumbuhan tumor (Tolba *et al.,* 2015). Setelah 14 hari aklimasi, injeksi DEN dilakukan melalui intraperitonial selama dua hari pada minggu pertama, kemudian mencit dikelompokkan secara acak menjadi empat: kelompok kontrol normal (KN), kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), serta kelompok perlakuan (P). Pemberian *doxorubicin* dan ekstrak *G. applanatum* dilakukan secara *gavage* selama satu bulan. Setelah satu bulan semua mencit dibedah.Proses pembedahan dilakukan satu hari setelah perlakuan terakhir. Sebelumnya dianestesi, kemudian didislokasi pada bagian tulang leher lalu diposisikan terlentang di atas papan bedah menggunakan *pins*. Mencit dibedah, pengambilan darah dari jantung bagian ventrikel kiri dan langsung ditempatkan di tabung.

Kadar MDA digunakan sebagai indikasi adanya stres oksidatif pada lemak tak jenuh dan adanya radikal bebas. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan adanya jumlah lipid yang teroksidasi. Tahap pengujian ini menggunakan kit *mouse* Malondialdehida ELISA. Sedangkan Kadar Bax digunakan untuk mengukur jumlah protein Bax dalam serum pengatur apoptosis.Tahap pengujian ini menggunakan kit *Mouse Apoptosis regulator BAX ELISA*. Prosedur kerja berdasarkan *protocol kit* sebagai berikut: Menyediakan reagen, larutan standart, dan sampel sesuai petunjuk. Reagen dibiarkan pada suhu ruang sebelum digunakan. Menambahkan 50 µL standart ke dalam *standard well*.

Sebanyak 40 µL sampel dimasukkan ke dalam *sample well* dan 10 µL antibodi anti-MDA untuk mengetahui kadar MDA dan antibodi anti-Bax untuk mengetahui kadar Bax ke dalam *sample well*. Kemudian tambahkan 50 µL streptavidin-HRP ke dalam *sample well* dan *standard well*, campur secara merata. *Plate* kemudian ditutup dengan *sealer*, Selanjutnya diinkubasi 60 menit pada suhu 37°C. *Sealer dipindah* dan *plate* dicuci sampai 5 kali menggunakan *wash buffer*. Selanjutnya *well* direndam dengan 300 µL *wash buffer* selama 30 detik hingga satu menit pada masing-masing pencucian. Tambahkan larutan substrat A 50 µL pada masing-masing *well*, larutan substrat B 50 µL ditambahkan. Kemudian, inkubasi *plate* tersebut selama 10 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap. Tambahkan 50 µL *stop solution* pada

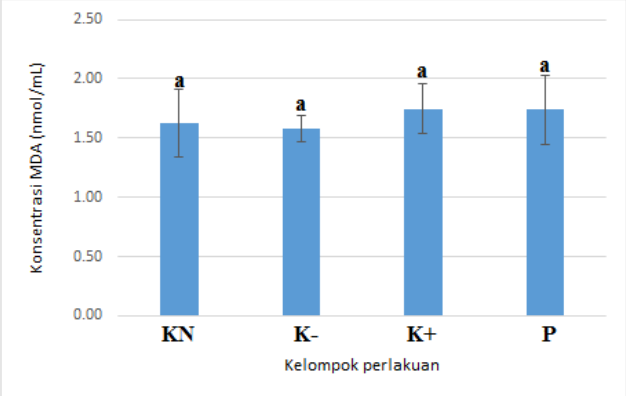
masing-masing *well*, dan amati warnanya. Setelah ditambah *stop solution* selama 10 menit, ukur *optical density* (OD) pada masing-masing *well* dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Pada eksperimen ini variabel bebasnya meliputi dosis ekstrak polisakarida *G. applanatum* yang dilarutkan dalam aquades. Variabel terikat pada eksperimen ini adalah kadar MDA dan Bax dalam serum. Variabel kontrol pada eksperimen ini yaitu umur, jenis kelamin, dan berat badan mencit, temperatur ruangan laboratorium hewan coba, kelembaban ruang, kebersihan kandang, waktu perlakuan, jenis pakan, dan air minum hewan coba. Data hasil eksperimen meliputi kadar MDA dan Bax dalam serum mencit (*Mus musculus*). Analisis data memakai program SPSS versi 25. Tahap awal dilakukan uji normalitas menggunakan *One-Sample* Kolmogorov Smirnov dan uji homogenitas menggunakan Levene. Selanjutnya dilakukan uji parametrik ANOVA (α=0,05) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Kemudian uji lanjutannya dilakukan uji Duncan untuk kadar Bax. Sedangkan uji lanjutan untuk kadar MDA menggunakan Kruskal Wallis (α= 0,05) dan dilanjutkan uji Mann–Whitney untuk mengetahui beda pengaruh antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

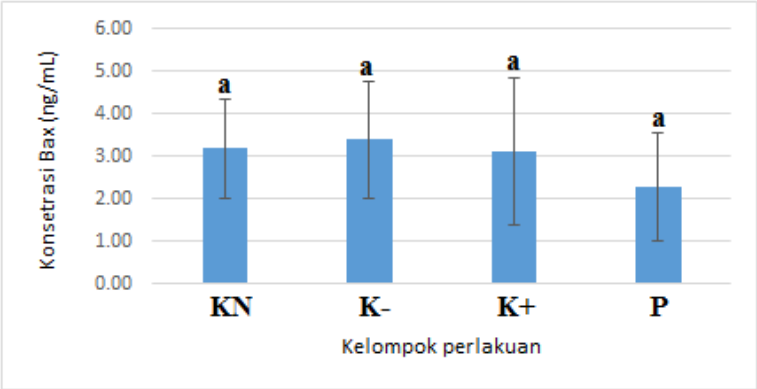
Hasil Penelitian

Hasil pengukuran kadar MDA dalam serum menunjukkan data terdistribusi tidak normal (uji Kolmogorov-Smirnov diperoleh nilai p = 0,004). Selanjutnya dilakukan uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai p=0,306 (p>0,05), artinya tidak ada pengaruh secara signifikan antar kelompok perlakuan dan dilanjutkan uji Mann-whitney untuk mengetahui adanya pengaruh antar perlakuan. Hasil analisis statistik menggunakan Mann-whitney, pengukuran kadar MDA pada setiap kelompok perlakuan ditampilkan pada gambar 1 di bawah ini. Berdasarkan gambar tersebut kelompok K- menunjukkan kadar MDA paling rendah (1,58±0,11 nmol/mL); dan tiga perlakuan lainnya yaitu KN (1,62± 0,28 nmol/mL), K+ (1,75±0,21 nmol/mL; dan P (1,74±0,29 nmol/mL).



Gambar 1. Diagram kadar MDA dengan pemberian ekstrak polisakarida *G. applanatum*, DEN dan *doxorubicin*.

Hasil pengukuran kadar Bax dalam serum menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen (uji Kolmogorov-Smirnov diperoleh nilai p = 0,200 dan Uji Levene nilai p = 0,583). Selanjutnya dilakukan uji parametrik ANOVA dan diperoleh nilai probabilitas 0,158 (p<0,05), artinya tidak ada pengaruh perlakuan terhadap kadar bax. Lalu dilanjutkan uji Duncan pada (α=0,05) untuk mengetahui hubungan antar kelompok perlakuan. Hasil analisis statistik menggunakan uji Duncan, pengukuran kadar bax di tiap kelompok perlakuan ditampilkan pada gambar 2 di bawah ini. Berdasarkan gambar tersebut, kelompok P menunjukkan kadar Bax paling rendah (2,28±1,27 ng/mL) dan tiga perlakuan lainnya yaitu KN (4.41± 2,14 ng /mL), K-(3,91±1,84 ng/mL), dan K+(4,30 ±1,61 ng/mL). Data menunjukkan empat kelompok perlakuan: KN, K-, K+ dan P pengaruhnya tidak berbeda secara signifikan.



Gambar 2. Diagram kadar Bax dengan pemberian ekstrak polisakarida *G. applanatum*, DEN dan *doxorubicin*.

Pembahasan

Hasil penelitian untuk kadar MDA tidak menunjukkan adanya pengaruh signifikan antar kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil ini, diasumsikan bahwa pengukuran MDA terlalu lama karena dilakukan kurang lebih dua jam setelah mencit dibedah. Senyawa radikal ini sangat labil dan merebut elektron senyawa lain supaya lebih stabil. Reaksi ini terjadi sangat cepat, sehingga proses pengukurannya sulit sekali. Sesuai yang diungkapkan oleh Situmorang & Zulham (2020) bahwa pengukuran radikal bebas secara langsung sulit sekali dilakukan karena tidak menetap lama, waktu paruhnya singkat, dan setelah itu hilang dengan sangat cepat. *Malondialdehid* (MDA) digunakan sebagai biomarker rusaknya suatu sel atau jaringan. Proses peroksidasi lipid ini tentunya akan mengganggu intergritas membran sel dan menyebabkan perubahan susunan struktur membran (Reni, 2018).

Hasil penelitian kadar Bax tidak menunjukkan adanya pengaruh signifikan antar kelompok perlakuan. Hal ini diasumsikan kematian sel yang diinisiasi lewat jalur mitokondria tidak hanya Bax saja yang berperan. Ada kelompok protein Bcl-2 lain yang ikut terlibat. Seperti yang disampaikan Opferman & Kothari (2018) bahwa kematian sel melalui jalur ini dikendalikan oleh anggota kelompok Bcl-2. Anggota kelompok Bcl-2 terbagi menjadi dua, dimana ada yang bersifat anti-apoptosis seperti Bcl-2 dan pro-apoptosis seperti Bax, Bid, Bad atau Bim. Protein dari keluarga Bcl-2 berperan penting dalam regulasi apoptosis (baik positif maupun negatif) dengan mengontrol proses MOMP (*Mitochondrial outer membrane permeabilization*). Bax adalah protein keluarga Bcl-2 yang bertanggung jawab untuk MOMP dan membentuk pori-pori melalui ruang intermembran mitokondria. Jalur mitokondria akan mengubah ekspresi antara gen proapoptosis (Bax) dan antiapoptosis (Bcl-2). Di sitosol, protein Bax mampu berpindah ke membran mitokondria. Adanya interaksi Bax dengan Bcl-2 berakibat membran mengalami kerusakan.

Adanya kemoterapi, radiasi atau stimulus yang lain dapat menginisiasi apoptosis lewat jalur ini, dimana sebagai mediator signal adalah protein pro-apoptosis. Jalur ini akan menyebabkan pengeluaran sitokrom c ke sitosol dan berikatan dengan *Apoptotic Protease Activating Factor-1* (APAF1) membentuk apoptosome. Pro-caspase-9 diaktifkan oleh apoptosome dan berubah menjadi caspase-9 yang akan mengaktifkan caspase-3. Semakin banyak protein Bax maka peluang interaksi dengan Bcl-2 semakin tinggi atau rasio Bax/Bcl-2 meningkat berakibat sel lebih mudah berapoptosis. Indikasi ini ditunjukkan fungsi fisiologis sel yang berubah dengan meningkatnya produksi enzim caspase-3 sebagai eksekutor peristiwa apoptosis (Yuli dan Suhartono, 2014).

SIMPULAN

Pemberian ekstrak polisakarida *G. applanatum* dalam serum Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi DEN tidak menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kadar MDA dan Bax. Berdasarkan hasil penelitian ini, penulis menyarankan bahwa ekstrak polisakarida *G. applanatum* pada dosis 150 mg/kg BB sangat perlu untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi *G. applanatum* sebagai antioksidan, imunomodulator dan menginduksi jalur apoptosis, sehingga dapat mencegah karsinogenesis yang menuju ke kanker. Penelitian ini juga perlu dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak polisakarida *G. applanatum* pada dosis yang lain terhadap parameter yang diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

Chaudhary, D., Khatiwada, S., Sah, S. K., Tamang, M. K., Bhattacharya, S, & Jha, C. B. (2016). Effect of doxorubicin on histomorphology of liver of wistar albino rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4: 186-190.

Chen, S., Chang, C., Hung, M., Chen, S., Wang, W., Tai, C., Lu, C. (2014). The effect of mushroom betaglucans from solid culture of *Ganoderma lucidum* on inhibition of the primary tumor metastasis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*: 1-7.

Giavasis L. (2014). Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. *Curr Opin Biotech*, 26: 162-73.

Gonzales, M.L., Nagamani, B., Cristobal, N.A. (2020). *Advances in food bioproducts and bioprocessing technologies*. New York. CRC Press.

Hayaza, S., Darmanto, W., Sri Puji, S.A.W., Joko, R.K.S., Akhmad, S.H., Winarni,D., Doong, R., (2022). Immunomodulatory activity of okra raw polysaccharide extract by regulating TNF-A, IFN-G levels, and cell apoptosis in DEN-induced mice. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(2): 546-550.

Karp. Gerald. 2014. *Cell and molecular biology*. USA: Wiley and Sons Inc.

Kumar S., Auroshree, P., Mishra, J., Baliyarsingh, B., Tayung, K.,Thatoi, H. (2015). Bioactive carbohydrates and dietary fibre. Diakses dari http://dx.doi.org/10.1-16/j.bcdf.2015. 11.001.

Mohebbati, R., Abbsnezhad, A., Khajavi, R. A., Mousavi, S.M., Haghshenas, M. (2016). Effect of hydroalcholic extract of nigella sativa on doxorubicin- induced functional damage of kidney in rats. Horizon Med Sci, 22(1): 13-20.

Puspita, N. A. (2016). Kemoprevensi untuk pencegahan kanker: fakta atau mitos?. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 16 (2): 114–121.

Radwan, F. F., Hossain, A., God, J. M., Leaphart, N., Elvington, M., Nagarkatti, M., Tomlinson, S., Haque, A. (2015). Reduction of myeloid-derived suppressor cells and lymphoma growth by a natural triterpenoid. *Journal of cellular biochemistry*, *116*(1): 102–114.

Reni, E.Y. (2018). *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Yogyakarta. Deepublish publisher.

Shirakami, Y., Gottesman, M.E., Blaner, W.S. (2014). Diethylnitrosamine induced hepatocarcinogenesis is suppressed in lecithin: retinol acyltransferase-deficient mice primarily through retinoid actions immediately after carcinogen administration. *Carcinogenesis*, 33(2): 268- 274.

Skolastika. (2019). *Pengaruh ekstrak etanolik jamur lingzhi (Ganoderma lucidum Let. ex Fr. Kar.) pada sel kanker payudara T47D : kajian aktivitas sitotoksik, induksi apoptosis dan ekspresi reseptor estrogen alfa.* Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

Synytsya, A & Novák, M. 2013. Structural diversity of fungal glucans. *Carbohydrate Polymers*, 92(1): 792–809.

Wieczorek, M., Esam T., Abualrous, Miguel, J., Álvaro-Benito, Stolzenberg, S., Christian Freund, (2017). Major Histocompatibility Complex (MHC) class I and MHC class II proteins: conformational plasticity in antigen presentation. Front. Immunol., Sec. Antigen Presenting Cell Biology, 8–20.

Yuen, J. W., Gohel, M. D., Ng, C. F. 2014. The differential immunological activities of *Ganoderma lucidum* on human pre-cancerous uroepithelial cells. *Journal of ethnopharmacology*, *135*(3): 711–718.

Yuli, E.P. dan M.T. Suhartono. (2014). Pati resistan serta perannya dalam penghambatan proliferasi dan induksi apoptosis sel kanker kolon. Rumah Sakit Kanker "Dharmais" (Pusat Kanker Nasional). 8(4).

Zi, Y., Zhang, B., Jiang, B., Yang, X., Liang, Z., Liu, W., He, C., Liu, L. (2018). Antioxidant action and protective and reparative effects of lentinan on oxidative damage in HaCaT cells. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 17(6): 1108–1114.