

## Profil Ekstrak Etanol 96% Jamur Dewa (*Agaricus blazei* Murill) Untuk Aktivitas Antikanker Payudara Pada Sel MCF-7

### *Profile Of 96% Ethanol Extract Of Jamur Dewa (Agaricus blazei Murill) For Anticancer Activity in MCF7 Cells*

Misgiati<sup>1\*</sup>, Anggraeni In Oktavia<sup>2</sup>, Windaniyah Sri Rahayu<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Politeknik Kesehatan Putra Indonesia Malang

Jalan Barito No.5 Malang, Jawa Timur Indonesia

Email : [faiz219@yahoo.co.id](mailto:faiz219@yahoo.co.id)\*

#### **Info artikel:**

Diterima:

16/02/24

Direview:

19/03/24

Diterbitkan:

30/04/24

#### **Abstrak**

Jamur dewa (*Agaricus blazei* Murill/ ABM) merupakan pangan fungsional, yang mempunyai aktivitas antikanker. Penelitian sebelumnya telah dilakukan menggunakan pelarut heksana dengan  $IC_{50}$  43.10  $\mu\text{g/mL}$ . Penggunaan pelarut heksana ini tidak disarankan dalam pengobatan, hal ini disebabkan pelarut heksana secara fisiologis akan termetabolisme menjadi 2,5-heksadione, yang akan bereaksi dengan amin esensial yang akan bekerja pada sel saraf, sehingga bersifat neurotoksik. Berdasarkan hal ini untuk ekstraksi diperlukan pelarut yang lainnya yaitu etanol 96%. Etanol 96% ini pelarut yang relative aman.

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi profil metabolit sekunder ABM yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dan uji aktivitas antikanker payudara pada sel MCF-7. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, filtrat dikeringkan dengan *freeze drying*. Penentuan profil metabolit sekunder menggunakan metode reaksi warna dan KLT. Uji aktivitas antikanker menggunakan metode uji MTT untuk menentukan  $IC_{50}$ . Hasil uji profil metabolit sekunder secara reaksi warna dan KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% ABM mengandung terpenoid dan alkaloid. Pengujian aktivitas antikanker dilakukan secara *in-vitro* menggunakan sel MCF-7 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% ABM memiliki aktivitas antikanker dengan  $IC_{50}$  89,8419 $\mu\text{g/mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  tersebut termasuk *strong cytotoxicity*

**Kata kunci :** Jamur dewa, Ekstrak Etanol 96%, Antikanker, Sel MCF-7

#### **Abstract**

Jamur dewa (*Agaricus blazei* Murill/ ABM) is a functional food, which has anticancer activity. Previous research has been carried out using hexane solvent with an  $IC_{50}$  of 43.10  $\mu\text{g/mL}$ . The use of hexane solvent is not recommended in medicine, this is because the hexane solvent will physiologically metabolize into 2,5-hexadione, which will react with essential amines which will act on nerve cells, so it is neurotoxic. Based on this, for extraction another solvent is needed, namely 96% ethanol. 96% ethanol is a relatively safe solvent

The aim of this study was to identify the secondary metabolite profile of ABM extracted using a 96% ethanol solvent and test its anti-breast cancer activity on MCF-7 cells. The extraction method used is maceration, and the filtrate is dried using freeze drying. Determination of secondary metabolite profiles using color reaction and TLC methods. The anticancer activity test uses the MTT test method to determine the  $IC_{50}$ . The results of the secondary metabolite profile test using color reaction and TLC showed that the 96% ABM ethanol extract contained terpenoids and alkaloids. Anticancer activity testing carried out *in vitro* using MCF-7 cells showed that 96% ABM ethanol extract had anticancer activity with an  $IC_{50}$  of 89.8419 $\mu\text{g/mL}$ . The  $IC_{50}$  value includes strong cytotoxicity.

**Keyword :** *Agaricus blazei* Murill, ethanol 96% extract, Anticancer, MCF-7 cells.

## I. PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan jenis kanker kedua terbanyak pada wanita di seluruh dunia dan di Indonesia. Kanker payudara paling sering ditemukan setelah kanker mulut rahim. Data terbaru selama tahun 2023 terdapat 300.590 kasus kanker payudara dengan kasus meninggal 43.700 (*American cancer society*, 2023). Sedangkan data Globocan tahun 2020, jumlah kasus baru kanker payudara mencapai 68.858 kasus (16,6%) dari total 396.914 kasus baru kanker di Indonesia. Sementara itu, untuk jumlah kematiannya mencapai lebih dari 22 ribu jiwa kasus.

Usaha pencarian obat antikanker dari penggunaan bahan alam yang mempunyai target molekuler yang spesifik, selektifitas yang tinggi, dan efek samping minimum, amat diperlukan dalam pengobatan penyakit kanker. Penggunaan bahan alam memanfaatkan potensi sumberdaya yang melimpah, yang dapat digunakan untuk pengembangan obat tradisional dan mengurangi ketergantungan import. Adanya pengembangan ini, harapan ke depan adanya peningkatan obat fitofarmaka, salah satu unggulan dalam negeri yang merupakan rancangan dan ditetapkan untuk menuju kemandirian pengobatan masyarakat Indonesia. Adapun obat sampai menuju fitofarmaka tahapan yang dilakukan sangat panjang. Salah satu strategi pengembangan obat antikanker payudara adalah penemuan senyawa baru dari bahan alam dengan target aksinya pada gen-gen yang mengatur pertumbuhan, deferensiasi, dan apoptosis yang selanjutnya dapat terjadinya kematian sel kanker.

Penelitian yang sudah banyak dilakukan pada tanaman tingkat tinggi, untuk tanaman tingkat rendah masih belum banyak dilaporkan. Salah satu tanaman tingkat rendah yang dapat menghambat pertumbuhan kanker adalah jamur dewa (*Agaricus blazei* Murill/ABM). Jamur dewa dapat digunakan untuk pengobatan dilakukan dengan merendam/ menyeduh dengan air panas. Oleh karena itu diperlukan landasan ilmiah dari jamur dewa tersebut dengan melakukan eksplorasi senyawa kimia yang terkandung dalam jamur dewa.

Kandungan ABM golongan karbohidrat adalah  $\alpha$ -(1-4)-;  $\beta$ -(1-6)-glukan (Fujimiya, 1998),  $\alpha$ -(1-6)-;  $\alpha$ -(1-4)-glukan,  $\beta$ -(1-6)-;  $\beta$ -(1-3)-glukan,  $\beta$ -(1-6)-;  $\alpha$ -(1-3)-glukan (Mizuno, T., *et al.*, 1990), lektin (Kawagishi, H. Kanao., *et al.*, 1990), riboglukan (Cho, S.M., *et al.*, 1999), glukomanan (Hikichi, M., *et al.*, 1999). Yang termasuk golongan terpenoid adalah ergosterol (Takaku, T., *et al.*, 2001; Misgiati *et al.*, 2021), blazein (Itoh H., *et al.*, 2008), blazeispirol B, C, E dan F, des-A-ergostane (Hirotani, M., *et al.*, 2002), agariblazepirol C (Hirotani, M., *et al.*, 2005). Golongan alkaloid adalah Agaritin (Stijve T, 2000). Vitamin adalah asam askorbat,  $\alpha$ - dan  $\delta$ -tokoferol (Huang, S.J dan Mau, 2006). Berdasarkan dari beberapa kandungan tersebut di atas jamur dewa dapat digunakan sebagai antikanker. Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan aktivitas sebagai antikanker ini. Ekstrak etanol 50% jamur dewa dapat menghambat pertumbuhan sel Hela dengan nilai  $IC_{50}$  194.4  $\mu$ g/ml (Misgiati, 2011). Agaritin hasil isolasi dari jamur dewa dapat menghambat proliferasi sel kanker leukemia U937, MOLT4, HL60, dan K562 dengan nilai  $IC_{50}$  2,7; 9,4; 13,0; dan 16,0  $\mu$ g/ml, dan pada sel normal limfatik tidak ada hambatan sampai konsentrasi 40,0  $\mu$ g/ml (Akiyama, *et al.*, 2011). Blazein juga hasil isolasi jamur dewa dapat .menginduksi kematian human lung LU99 dan stomach KATO III cancer line pada konsentrasi 200  $\mu$ g/ml (Wu, *et al.*, 2012). Jamur dewa dapat menghambat proliferasi pada sel kanker prostat DU145 dan PC3 400  $\mu$ g/ml dan 800  $\mu$ g/ml (Yu *et al.*, 2009). Ekstrak air panas jamur dewa juga menghambat pertumbuhan sel pankreas. Ekstrak jamur dewa dapat menghambat sel myolema dan sel leukemia (Tangen *et al.*, 2017). Sedangkan penelitian terakhir dari peneliti ekstrak heksana mempunyai kemampuan antikanker sel MCF-7 dengan  $IC_{50}$  24,72  $\mu$ g/mL (Misgiati, *et al.*, 2017), isolat ergosterol dari ekstrak heksana ABM mempunyai  $IC_{50}$  43.10  $\mu$ g/mL (Misgiati *et al.*, 2021; Misgiati, 2022) Ekstrak ABM dengan pelarut secara bertingkat heksana, diklorometana, etilasetat mempunyai kemampuan antikanker sel MCF-7 juga (Misgiati, 2022a). Penggunaan pelarut heksana

ini tidak disarankan dalam pengobatan, hal ini disebabkan pelarut heksana secara fisiologis akan termetabolisme menjadi 2,5-heksadione, yang akan bereaksi dengan amin esensial yang akan bekerja pada sel saraf, sehingga bersifat neurotoksik (Boekelheide, K. dan Schoenfeld, 2001; PubChem, 2023). Berdasarkan hal ini dalam pembuatan ekstrak akan digunakan etanol 96% yang dapat melarutkan metabolit sekunder yang bersifat nonpolar dan polar, serta relatif aman., juga metabolit sekunder yang terlarut dalam heksana bisa terlarut dalam etanol 96%. Tujuan penelitian ini mengidentifikasi profil metabolit sekunder ekstrak etanol 96% jamur dewa dengan metode reaksi warna dan KLT, serta aktivitasnya terhadap antikanker payudara pada sel MCF-7.

## II.METODE PENELITIAN

### Material

Bahan uji/ simplisia kering jamur dewa diperoleh dari Industri Obat Tradisional *Agaricus Sido Makmur*, Lawang Kabupaten Malang dengan No 592/SKet/ASM/XII/2020. Pelarut untuk ekstraksi etanol 96% (pa). Bahan untuk profil metabolit sekunder adalah heksana (pa), etilasetat (pa), kloroform (pa), methanol(pa), asam asetat (pa), aquadest, butanol (pa), etanol(pa), reagen dragendorf, , larutan FeCl<sub>3</sub>, larutan AlCl<sub>3</sub>, larutan anisaldehyd, dan lempeng silica GF<sub>254</sub>. Bahan yang digunakan untuk pengujian aktivitas antikanker adalah sel MCF-7 (ATCC HTB 22), , Mediapenumbuh (RPMI 1640 yang disuplementasi dengan Fetal Bovine Serum/FBS, penicillin, dan Streptomycin), , MTT (3-(4, 5-dimetiltiazole-2- il)-2, 5-difeniltetrazolium bromide), kristal formazan

Alat yang digunakan untuk ekstraksi adalah botol/ Erlenmeyer untuk proses ekstraksi, corong, Erlenmeyer, beker gelas, evaporator, oven, alat *freeze drying*. Alat yang digunakan untuk profil metabolit sekunder adalah tabung reaksi, pipet tetes, chamber, pipa kapiler, alat penampak noda, sinar uv 254, dan 366, pemanas, *shaker*. Alat yang digunakan untuk menentukan aktivitas antikanker adalah cawan kultur, inkubator CO<sub>2</sub>, *laminar air flow*, *centrifuge*, *vortex*, botol, *microplate*, *conical tube*, autoklaf, *vacum flash*, adaptor, hemositometer, mikroskop, *ELISA reader* panjang gelombang 595 nm.

### Rancangan Penelitian

### Pembuatan Ekstrak Etanol 96% ABM

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yaitu merendam 200gram ABM dengan etanol 96% sampai ABM terendam semuanya, volume dilebihkan separuh dari tinggi ABM yang terendam. Perendaman dilakukan selama 3 hari, sambil dilakukan pengadukan. Saring, filtrat ditampung ditempat, ampas direndam lagi/remaserasi. Remaserasi dilakukan sampai warna larutan mendekati warna etanol 96%. Filtrat keseluruhan di evaporasi, sampai memperoleh ekstrak yang kental, dan dikeringkan dengan alat *freeze drying*. Hasilnya ditimbang dan dihitung prosentase rendemen.

### Penentuan Profil ekstrak etanol 96% ABM

Profil ekstrak etanol 96% ABM dilakukan dengan reaksi warna dan metode KLT. Metode reaksi warna sesuai dengan jenis metabolit sekundernya. Golongan terpenoid menggunakan reagen Liberman. Alkaloid dengan reagen dragendorf. Saponin dengan penambahan air pengocokan. Falavonoid dengan larutan NaOH. Golongan fenol dengan larutan FeCl<sub>3</sub>. Steroid dengan kloroform, asam asetat, dan asam sulfat. Metode KLT dilakukan dengan menguji berdasarkan literatur yang terkandung dalam ABM. Metabolit sekunder golongan terpenoid, steroid, alkaloid, dan flavonoid. Metode Kromatografi lapis Tipis (KLT) untuk metabolit sekunder ini memerlukan lempeng KLT dan beberapa eluen berdasarkan jenis metabolit sekundernya. Prosedur untuk metode KLT adalah menentukan dan membuat jenis eluen berdasarkan jenis metabolit sekunder, selanjutnya dilakukan penjenjuran eluen pada bejana eluasi. Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT berupa lempeng silika gel. Proses eluasi dilakukan sampai tanda batas. Pengamatan dilakukan dengan sinar tampak dan pada sinar UV pada  $\lambda$  254 dan  $\lambda$  366, selanjutnya disemprot penampak noda sesuai dengan jenis metabolit sekundernya.

### Penentuan Aktivitas Antikanker Metode MTT

Ekstrak dilakukan uji MTT untuk menentukan IC<sub>50</sub> (Pusat Studi Satwa Primata, 2023)(, 23), langkah langkahnya: Sel MCF -7 (ATCC HTB 22) ditumbuhkan dengan konsentrasi 5000 sel dalam

100µL media penumbuh (RPMI1640 yang disuplementasi dengan Fetal Bovine Serum (FBS) 10% dan Penicillin 100 U/mL, Streptomycin 100 ug/mL) . Ekstrak di tambahkan setelah sel konfluen 50% (24 jam). Uji MTT dilakukan pada hari ke 3, dengan menambahkan MTT (5mg/mL) sebanyak 10 µL per sumur , inkubasi 4 jam pada suhu 37° C. Kristal formazan dilarutkan dalam etanol. Pembacaan nilai absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 595 nm. Tentukan nilai IC<sub>50</sub>.

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{\text{Absorbansi sel dengan perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media sel}}{\text{Absorbansi kontrol media sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil Ekstraksi ABM dengan pelarut Etanol 96%

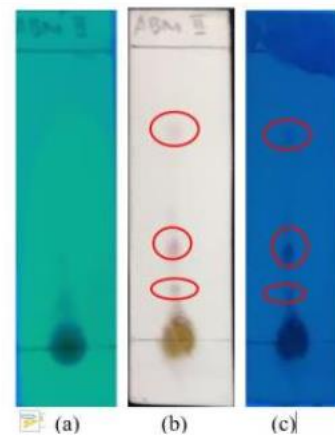
Ekstrak yang dihasilkan dengan rendemen 10,7025%. Konsisten ekstrak etanol 96% ABM kental. Penggunaan pelarut etanol 96% melarutkan senyawa- senyawa yang bersifat polar dan nonpolar. Hasil profil ekstrak etanol 96% ABM berdasarkan reaksi warna terdapat pada tabel 1

Tabel 1: Hasil Pengamatan Reaksi Warna Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol 96% Jamur Dewa

Gol Senyawa	Pereaksi	Literatur Positif	Hasil pengamatan
Terpenoid	Libermann-B	Biru tua	+
Fenol	FeCl <sub>3</sub>	Merah/Ungu	-
Alkaloid	Dragendorf	Jingga	+
Saponin	Aquadest	busa	-
Flavonoid	NaOH	Merah/kuning	-
Steroid	Kloroform+ As.Asetat, As Sulfat	Cincin Biru	-

Berdasarkan tabel 1, diperoleh hasil metabolit sekunder pada ekstrak etanol 96% jamur dewa mengandung golongan senyawa terpenoid, dan alkaloid. Menurut (Misgiati, *et al.*, 2021) hasil isolasi jamur dewa adalah ergosterol, blazein (Itoh H., *et al.*, 2008), blazeispirol B, C, E dan F, des-A-ergostane (Hirotani, M., *et al.*, 2002), agariblazeispirol C (Hirotani, M., *et al.*, 2005), senyawa –senyawa tersebut adalah golongan terpenoid. Hal ini juga diperkuat hasil identifikasi/

profil menggunakan metode KLT seperti pada gambar 1. Hasil KLT menggunakan eluen heksana: etilasetat (4:1) dengan penempak noda Lieberman B, menghasilkan warna coklat kebiruan. Sedangkan Metabolit sekunder yang selanjutnya adalah golongan alkaloid, yang ditunjukkan dengan adanya warna jingga dengan reagen dragendorf. Hal ini juga diperkuat dengan metode KLT seperti yang terdapat pada gambar 2 dengan menggunakan eluen kloroform: metanol (3,5:1,5) dengan penampak noda larutan dragendorf menunjukkan warna jingga.



Gambar 1: Hasil Eluasi Ekstrak Etanol 96% Jamur Dewa dengan eluen Heksana: Etil asetat (4:1), lempeng Silika GF 254; (a) pengamatan sinar UV 254; (b) penampak noda Lieberman Bourcardat, dipanaskan pada 105°C selama 5-10 menit, diamati pada sinar tampak dengan warna biru keunguan;(c) ditambah penampak noda Lieberman Bourcardat, dipanaskan pada 105°C selama 5-10 menit, diamati pada sinar UV 254.



Gambar 2: Hasil Ekstrak etanol 96% jamur Dewa dengan eluen Kloroform: Metanol (1:1), lempeng silika GF 254, penampak noda dragendorf pengamatan sinar tampak dengan warna noda orange

Pengujian aktivitas antikanker dilakukan secara *in-vitro* menggunakan sel MCF-7 Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antikanker adalah metode MTT. Prinsip reaksi yang terjadi adalah enzim yang terdapat pada sel akan mereduksi garam 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2-5-difenil tetrazolium (tetrazolium MTT) membentuk kristal formazan berwarna ungu. Garam kristal ini akan larut dengan adanya larutan sodium dedocyl sulfat yang berfungsi sebagai *stopper*. Dengan larutnya kristal ini akan diukur absorbansinya dengan ELISA *reader*. Jumlah sel ditunjukkan dengan adanya intensitas warna ungu, semakin banyak jumlah sel maka sel akan berwarna ungu, artinya tidak ada aktivitas zat yang bersifat toksik. Nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh berdasarkan % sel yang hidup, dan selanjutnya dianalisa probit. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan bahwa konsentrasi bahan uji yang dapat menghambat 50% pertumbuhan sel kanker. Ekstrak etanol 96% jamur dewa pada sel kanker payudara MCF-7 IC<sub>50</sub> nya 89,8419µg/mL. nilai IC<sub>50</sub> tersebut termasuk *strong cytotoxicity* (Weerapreeyakul, *et al.*, 2012). Ekstrak etanol 96% jamur dewa mengandung terpenoid dan alkaloid. Golongan senyawa inimempunyai aktivitas antikanker. Sementara dalam ekstrak ABM mengandung terpenoid yaitu ergosterol ((Takaku, T., *et al.*, 2001; Misgiati *et al.*, 2021), blazein (Itoh H, *et al.*, 2008), blazeispirol B, C, E dan F, ergostane (Hirotani, M., *et al.*, 2002), serta alkaloid yaitu agartine (Stijve T, 2000). Mekanisme kerja ergosterol sebagai antikanker dengan meninduksi terjadinya apoptosis (Misgiati *et al.*, 2021). Sedangkan agaritine mempunyai mekanisme kerja menginduksi fragmentasi DNA, ekspresi annexin V, pelepasan sitokrom c, dan aktivitas caspase-3, 8, dan 9 meningkat secara bertahap (Akiyama *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan terkait jenis terpenoid dan alkaloid apa yang terkandungnya, yaitu dengan proses fraksinasi dengan panduan *Bioassay guided fractionation*.

#### IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Profil ekstrak etanol 96% jamur dewa mengandung golongan senyawa terpenoid dan alkaloid
2. Ekstrak etanol 96% jamur dewa mempunyai aktivitas antikanker payudara sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> 89,8419µg/mL.

#### V. UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, peneliti ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu terwujudnya penelitian ini :

1. Industri Obat Tradisional Agaricus Sido Makmur Lawang kabupaten Malang yang telah menyediakan simplisia Jamur dewa
2. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan kesempatan peneliti menerima dana Hibah Penelitian Dosen Pemula tahun penerimaan 2023

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Akiyama, *et al.* (2011). Agaritine from *Agaricus blazei* Murill Induces Apoptosis in The Leukimia Cell Line U937. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- General Subject*, 1810 (5), 519–525.  
<https://www.researchgate.net/publication/50303608>
- [2] American cancer society. (2023). *Breast cancer: key statistic of breast cancer*. Diakses 5 Oktober 2023
- [3] Aouali, N., Morjani, H., Trussardi, A., Soma, E., Giroux, B., & Manfait, M. (2003). Enhanced cytotoxicity and nuclear accumulation of doxorubicin-loaded nanospheres in human breast cancer MCF7 cells expressing MRP1. *Int J Oncol*, 23(4), 1195–1201.  
<https://doi.org/10.3892/ijo.23.4.1195>
- [4] Boekelheide, K. dan Schoenfeld, H. . (2001). Spermatogenesis By Sisyphus: Proliferating Stem Germ Cells Fail To Repopulate The Testis After “Irreversible” Injury. *Biological Reactive Intermediates*, 6, 421–428.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11764975>
- [5] Cho, S.M., Park, J.S., Kim, K.P., Cha, D.Y., Kim, H.M. And Yoo, I. (1999). Chemical Features and Purification of Immunostimulating Ppolysaccharides from

the Fruit Bodies of *Agaricus blazei*. *Kor. J. Mycol*, 27(2), 170–174. <https://www.semanticscholar.org/paper/Chemical-Features-and-Purification-of-from-the-of-Cho-Park>

- [6] Fujimiya, Y. dan E. T. (1998). Antitumor Effect Of A Peptide-Glucan Preparation Extracted From *Agaricus blazei* in A Double=Grafted Tumor System In Mice. *Viotherapy*., 11(4), 259–265. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9950102>
- [7] Harborne, J. B. (2006). *Metode Fitokimia*. ITB Bandung.
- [8] Hikichi, M., Hiroe, E. and Okubo, S. (1999). *Protein Polysaccharide 0041*. Paten. <https://patents.google.com/patent/EP0939082A1/de>
- [9] Hirotani, M., Masuda, M., Sukemori, A., Hirotani, S., Sato, N., dan Yoshikawa, T. (2005). Agariblazeipiro C From The Cultured Mycelia Of The Fungus, *Agaricus blazei*, and The Chemical Conversion of Blaizeipiro A. *Tetrahedron*, 61(189–194). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402004017405>
- [10] Hirotani, M., Sai, K., Hirotani, dan Y. (2002). Blaizeispiro B, C, E, dan F, des-A-ergostane-type compound, from The Cultured Mycelia of The Fungus *Agaricus blazei*. *Phytochemistry*, 59, 571–577. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942201004459>
- [11] Huang, S.J dan Mau, J. . (2006). Antioxidant Properties of Methanolik Extracts From *Agaricus blazei* With Various Doses of gamma-Irradiation. *Food Science and Tehnology*, 39, 707–716. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643805001222>
- [12] Itoh, H., Ito, H., and Hibashami, H. (2008). Blaizein of a new steroid isolated from *Agaricus blazei* Murrill (himematsutake) induces cell death and morphological change indicative of apoptotic chromatin condensation in human lung cancer LU99 and stomach cancer KATO III cells. *Oncology Reports*, 20, 1359–1361. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19020714>
- [13] Kawagishi, H. Kanao, T. (1990). Formolysis of aPotent Antitumor (1,6)-Beta-D-Glucan-Protein Complex From *Agaricus blazei* Fruiting Bodies and Antitumor Activity Of The Resulting Products. *Carbohydrate Polymers*, 12(4), 393–403. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/014486179090089B>
- [14] Misgiati, Sukardiman, W. (2017). Anti-Breast Cancer Potency of Multistage Extraction from Jamur Dewa (*Agaricus blazei* Murill) Solvents on MCF-7 Cells. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. <https://ijcc.chemoprev.org/index.php/ijcc/article/view/144>
- [15] Misgiati. (2011). *Kemampuan antikanker ekstrak jamur dewa (Agaricus blazei Murill) pada sel kanker serviks sebagai bahan bacaan pengobatan tradisional*. Universitas Negeri Malang.
- [16] Misgiati. (2022a). Potensi Ekstrak N-Heksan, Diklorometana, Etil Asetat, Dan Etanol 70% Jamur Dewa (*Agaricus blazei* Murill) Terhadap Sel MCF-7. *APDFI (Asosiasi Pendidikan Diploma Farmasi Indonesia) Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 11–23. <https://jurnalfarmasi.or.id/index.php/jrki/article/view/231?articlesBySameAuthorPage=1>
- [17] Misgiati. (2022b). *Proses Ekstraksi jamur Dewa (Agaricus blazei Murill) Dan aktivitas Ekstrak Pada Sel Kanker MCF-7* (Patent No. IDP000081884). <https://pdki->

indonesia.dgip.go.id/detail/620375bef3e5c7ca88718b74383e11069b2dba36d08cb43d2a524e635d4b5bd4%3Fnomor=P00201909050?type=patent&keyword=jamur+dewa

- [18] Misgiati, M., Widyawaruyanti, A., & Raharjo, S. J. (2021). Ergosterol isolated from *Agaricus blazei* Murill n-hexane extracts as potential anticancer MCF-7 activity. *Pharmacognosy Journal*, 13(2), 418–426. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.53>
- [19] Mizuno, T. Inagi R, Kanao T, *et al.* (1990). Antitumor Activity and Some Properties of Water Insoluble Hetero-glycans From “Hemematsutake,” The Fruiting Body of *Agaricus blazei* Murill. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(11). <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00021369.1990.10870407>
- [20] PubChem. (2023). *Compound Summary n-Hexane. National Library of Medicine.* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/n-hexane>
- [21] Pusat Studi Hewan Primata. (2023). Pengujian Antikanker Metode MTT Assay. Bogor, IPB
- [22] Stijve T, P. A. (2000). Absence of agaritine in *Pleurotus* species and in other cultivated and wild-growing mushrooms not belonging to the genus *Agaricus*. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 96, 251–254. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20000314829>
- [23] Takaku, T., Kimura, Y., & Okuda, H. (2001). Isolation Of An Antitumor Compound From *Agaricus blazei* Murill And Its Mechanism Of Action. *Journal Of Nutrition*, 131(5), 1409–1413. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316622138125>
- [24] Tangen, J. M., Holien, T., Mirlashari, M. R., Misund, K., & Hetland, G. (2017). Cytotoxic effect on human myeloma cells and leukemic cells by the *agaricus blazei murill* based mushroom extract, andosan™. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/2059825>
- [25] Weerapreeyakul, N., Nonpunya, A., Barusrux, S., Thitimetharoch, T., & Sripanidkulchai, B. (2012). Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 7. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-7-15>
- [26] Wu, B., Cui, J., Zhang, C., & Li, Z. (2012). A polysaccharide from *Agaricus blazei* inhibits proliferation and promotes apoptosis of osteosarcoma cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(4), 1116–1120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.02.023>
- [27] Yu, C.-H., Kan, S.-F., Shu, C.-H., Lu, T.-J., Sun-Hwang, L., & Wang, P. S. (2009). Inhibitory mechanisms of *Agaricus blazei* Murill on the growth of prostate cancer in vitro and in vivo. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 20(10), 753–764. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.07.004>