

## **Ekstrak Air Jamur Ling Zhi (*Ganoderma lucidum* (Leysser) Karsten) Meningkatkan Persentase Sel Limfosit T CD8+ Relatif pada Tikus yang Dipejani Doxorubicin**

### **(Water Extract of Ling Zhi (*Ganoderma lucidum* (Leysser) Karsten) Increases the Percentage of Relative CD8+ T Lymphocyte Cell in Rat Induced by Doxorubicin)**

MUTHI' IKAWATI\*, ANNISA KARAMINA, EDIATI, RATNA ASMAH SUSIDARTI

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281

Diterima 28 Desember 2010, Disetujui 28 Februari 2011

**Abstrak:** Pengobatan kanker dengan agen kemoterapi sering menimbulkan berbagai macam efek samping yang merugikan, termasuk immunosupresi. Penggunaan immunostimulan bersama dengan agen kemoterapi (ko-kemoterapi) dapat menjadi alternatif untuk mengatasinya. *Ganoderma lucidum* (jamur Ling Zhi) dilaporkan menunjukkan aktivitas immunostimulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas immunostimulan ekstrak air *G. lucidum* dengan menentukan persentase sel limfosit T CD8+ relatif pada hewan uji yang dipejani doxorubicin. Ekstraksi bahan tanaman dilakukan dengan metode infusa. Tikus betina galur Sprague Dawley dibagi dalam 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol doxorubicin, kontrol pembanding produk komersil, perlakuan ekstrak dosis 100 mg/kgBB dan 450 mg/kgBB, kontrol ekstrak, dan kontrol tanpa perlakuan. Persentase sel limfosit T CD8+ relatif dari sampel darah diukur dengan *flow cytometry* menggunakan program Multiset. Data dianalisis secara statistik dengan *t-test* dan *one way ANOVA*, dilanjutkan *Post Hoc test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air *G. lucidum* mampu meningkatkan persentase sel limfosit T CD8+ relatif pada tikus yang dipejani doxorubicin. Ekstrak air *G. lucidum* menjanjikan untuk dikembangkan sebagai agen immunostimulan ko-kemoterapi.

**Kata kunci:** immunostimulator, sel limfosit T CD8+, *Ganoderma lucidum*, doxorubicin.

**Abstract:** Cancer therapy using chemotherapeutic agents associated with many adverse side effects, including immunosuppressant. The use of immunostimulator together with chemotherapeutic agent (co-chemotherapy) can be the alternative method to solve that problem. *Ganoderma lucidum* (Ling Zhi) has been reported to have immunostimulatory activity. The aim of this research was to evaluate the immunostimulatory activity of water extract of *G. lucidum* by determining the relative CD8+ T lymphocyte cell percentage in rats induced by doxorubicin. Extraction of plant material was carried out by infusion method. Sprague Dawley female rats were divided into six groups, they were doxorubicin as control, commercial product as comparing control, 100 mg/kgBW and 450 mg/kgBW extract treatment, extract control, and without treatment control. Relative CD8+ T lymphocyte cell percentages of blood samples were obtained by flow cytometry by using Multiset program. The data were analyzed statistically using paired sample t-test and one way ANOVA continued by Post Hoc test. The result showed that the water extract of *G. lucidum* increased the relative CD8+ T lymphocyte cell percentage in rats induced by doxorubicin. The water extract of *G. lucidum* is promising to be developed as co-chemotherapy immunostimulatory agent.

**Keywords:** immunostimulator, CD8+ T lymphocyte cell, *Ganoderma lucidum*, doxorubicin.

\* Penulis korespondensi, Hp. 08122756342  
e-mail: muthi\_ikawati@yahoo.co.id

## PENDAHULUAN

KANKER merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tidak terkontrol. Menurut laporan WHO, 1 penderita kanker meninggal setiap 11 menit dan muncul kasus kanker baru setiap 3 menit<sup>(1)</sup>. Salah satu usaha yang dilakukan untuk mengobati kanker adalah dengan pemberian agen kemoterapeutik, misalnya doxorubicin. Seperti agen kemoterapeutik lainnya, doxorubicin adalah senyawa kimia yang memiliki aktivitas sitotoksik dan bekerja langsung pada sel kanker. Namun penggunaannya secara berkepanjangan dapat melemahkan sistem imunitas tubuh sehingga pasien menjadi rentan terhadap penyakit dan infeksi yang lain<sup>(2)</sup>.

Doxorubicin dapat mempengaruhi fungsi sistem imun tikus yang diinduksi kanker dengan menurunkan interleukin-1 (IL-2) dan produksi interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) secara signifikan, sehingga menyebabkan penurunan sel sitotoksik *Natural Killer* (NK), proliferasi limfosit, dan rasio sel limfosit T CD4+/CD8+<sup>(3)</sup>. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu agen pendamping kemoterapi (ko-kemoterapi) yang dapat menjaga dan meningkatkan daya tahan tubuh pasien selama pemberian kemoterapi. Dengan adanya agen pendamping tersebut, diharapkan efek samping dari penggunaan agen kemoterapeutik yang berkepanjangan dapat diminimalisasi dan daya tahan tubuh pasien bisa terjaga sehingga kesembuhan lebih cepat tercapai.

Salah satu bahan alam yang berpotensi dimanfaatkan sebagai pendamping kemoterapi adalah jamur Ling Zhi atau Reishi (*Ganoderma lucidum* (Leysser) Karsten). Kandungan triterpen dan polisakarida pada *G. lucidum* memiliki efek sebagai antikanker yaitu melalui penghambatan proliferasi dan induksi apoptosis pada berbagai macam sel kanker baik *in vivo* maupun *in vitro*<sup>(4)</sup>. Kandungan polisakaridanya juga berefek sebagai imunostimulan, yaitu dengan menstimulasi produksi sitokin-sitokin dan aktivasi sel-sel imun antikanker<sup>(5)</sup>. Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk membuktikan aktivitas *G. lucidum* sebagai antikanker dan imunostimulan. Data yang telah ada menunjukkan potensi *G. lucidum* sebagai pendamping kemoterapi. Namun demikian belum banyak data mengenai aktivitas imunostimulasi *G. lucidum* saat digunakan bersamaan dengan agen kemoterapeutik. Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi efek imunostimulasi ekstrak *G. lucidum* pada tikus yang dipejani agen kemoterapeutik doxorubicin melalui parameter persentase sel limfosit T CD8+ yang diperoleh dengan metode *flow cytometry*. Hasil penelitian ini diharapkan akan memberikan data ilmiah yang dapat digunakan untuk pengembangan ekstrak *G. lucidum* sebagai agen pendamping kemoterapi.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Bahan utama: simplisia jamur Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*) yang dipanen pada usia 3 bulan didapatkan dari daerah Mlati, Kabupaten Sleman, D.I. Yogyakarta pada bulan Agustus 2009. Reagen Luff-Schoorl (mengandung asam sitrat, natrium karbonat, dan Cu-sulfat) diperoleh dari Laboratorium Fitokimia, Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Bahan uji: doxorubicin HCl 2 mg/ml (Kalbe, Boryung Pharmaceutical Co. Ltd., Korea), produk komersil sirup "I" (5 ml produk mengandung 500 mg Echinacea, 5 mg Zn picolinate dan 15 mcg Selenium) (PT. Lapi Laboratories, Indonesia). Pelarut bahan uji: CMC-Na(PT. Brataco Chemika, Indonesia) 1% yang dilarutkan dalam air suling. Hewan uji: tikus (*Rattus norvegicus*) betina galur Sprague Dawley umur 2 bulan dengan berat badan 100-200 gram diperoleh dari Unit Pemeliharaan dan Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP), Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM. Anestesi hewan uji: ketamine 100 mg/mL vial 10 mL (PT. Pfizer, Indonesia). Reagen *flow cytometry*: BD FACS *lysing solution* (BD Biosciences, San Diego, USA) untuk melisiskan sel darah merah, antibodi *rat CD3+ antigen / mouse monoclonal antibody to rat CD3 fluorescein isothiocyanate* (FITC) (Cat. no. MR5301, Invitrogen, Camarillo), antibodi *rat CD8+ antigen phycoerythrin* (PE)/ anti-rat CD8a PE (Cat. no.12-0084, eBioscience). Jika tidak dikatakan lain bahan-bahan yang digunakan berderajat pro analisis.

**METODE.** Pembuatan ekstrak *Ganoderma lucidum*. Simplisia *G. lucidum* didapatkan dari jamur yang dipanen pada usia 3 bulan, yang kemudian dikeringanginkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam selama 3-7 hari hingga kadar air maksimal 40%. Simplisia diserbuk dengan menggunakan blender hingga didapatkan serbuk yang siap diekstrak. Ekstrak dibuat dengan metode infusa yang dimodifikasi dari Pillai<sup>(6)</sup>. Serbuk diekstrak dengan air suling pada suhu waterbath selama 20 menit. Ekstrak disaring selagi panas dan dianginkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dipisahkan lagi dengan menggunakan *freeze dryer*.

Uji kualitatif kandungan gula pereduksi dengan uji Luff-Schoorl. Uji Luff-Schoorl dilakukan untuk mengetahui ada-tidaknya kandungan gula pereduksi dalam ekstrak. Ekstrak diencerkan hingga konsentrasi 1% dalam air kemudian dihidrolisis menggunakan HCl. Larutan ekstrak yang telah dihidrolisis diambil 1 ml dan ditambahkan beberapa tetes reagen Luff-Schoorl. Campuran dipanaskan di atas api bunsen hingga terbentuk endapan merah bata. Terbentuknya endapan merah bata menunjukkan bahwa ekstrak positif

mengandung gula pereduksi.

**Perlakuan hewan uji.** Hewan uji ditempatkan dalam kandang terpisah dengan suhu 28-32 °C, kelembapan nisbi 98%, dan diberi makanan pelet serta diberi minum air ledeng. Hewan uji diadaptasikan di kandang percobaan selama 3 hari sebelum diberikan perlakuan. Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor, yaitu kelompok (A) kontrol doxorubicin diberikan larutan doxorubicin 50 mg/25 mL dalam *water for injection* dengan dosis 4.67 mg/KgBB secara intra muskular 2 kali dalam seminggu; kelompok (B) doxorubicin + produk komersil "I" sebagai pembanding dosis 0.63 mL/KgBB secara peroral setiap hari selama seminggu, kelompok (C) perlakuan doxorubicin + ekstrak dosis 100 mg/kgBB; kelompok (D) perlakuan doxorubicin + ekstrak dosis 450 mg/kgBB; kelompok (E) kontrol ekstrak 450 mg/kgBB; dan (F) kontrol tanpa perlakuan<sup>(7-9)</sup>. Doxorubicin, produk komersil "I" dan ekstrak dilarutkan dalam CMC-Na 1%. Semua kelompok diberi perlakuan setiap hari selama 7 hari peroral, kecuali doxorubicin hanya diberikan dua kali seminggu pada hari ke-1 dan ke-4. Tiap tikus diambil sampel darahnya 2 kali, yaitu sehari sebelum perlakuan dan pada hari ketujuh perlakuan, melalui vena okularis setelah dianestesi dengan ketamin. Pemeliharaan dan perlakuan hewan uji dilakukan di Laboratorium Imunologi, Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi UGM.

**Penetapan persen CD8+ dengan flow cytometry.** Darah yang diambil dari vena okularis disimpan dalam *Vacutainer* EDTA (BD *Vacutainer* K<sub>2</sub> EDTA 5.4 mg, BD Franklin Lakes NJ USA). Selanjutnya dilakukan preparasi sampel yaitu sebanyak 5 µL *whole blood* ditambah 10 µL reagen antibodi *rat CD3 antigen FITC* dan antibodi PE *anti-rat CD8a*, kemudian divorteks dan didiamkan dalam ruang gelap selama 15 menit. Setelah itu, ditambah 450 µL BP *facs lysing solution* untuk pengenceran, divorteks, kemudian didiamkan lagi dalam ruang gelap selama 15 menit. Sampel dibaca dengan *flow cytometer* (BD FACS *Calibur Flow Cytometer*, Becton, Dickinson and Company) dan dianalisis menggunakan program Multiset. Data yang dihasilkan berupa jumlah CD8+ relatif terhadap sel T limfosit. *Flow cytometry* dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran UGM.

**Analisis persen CD8+ relatif.** Antibodi *rat CD3 antigen FITC* akan mengenali antigen CD3+ yang diekspresikan oleh sel T limfosit, sedangkan antibodi PE *anti-rat CD8a* akan bereaksi spesifik dengan subunit α CD8 dari sel T limfosit. Data yang dihasilkan berupa persentase sel limfosit T CD8+ relatif terhadap sel limfosit T total dalam sampel. Data dianalisis secara statistik dengan *paired sample t-test* untuk

membandingkan signifikansi perbedaan persentase sel limfosit T CD8+ relatif sebelum dan sesudah perlakuan. Data juga dianalisis dengan *one way ANOVA* dilanjutkan *Post Hoc test* untuk membandingkan persentase peningkatan sel limfosit T CD8+ antar kelompok penelitian. Persentase peningkatan sel limfosit T CD8+ didapat dengan rumus:

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

$$\% \text{ peningkatan sel limfosit T CD8+} = \frac{\text{Selisih \% peningkatan sel limfosit T CD8+}}{\% \text{ sel limfosit T CD8+ sebelum perlakuan}} \times 100\%$$

**Hasil ekstraksi *Ganoderma lucidum*.** Tujuh ratus lima puluh gram simplisia *G. lucidum* diserbuk dan didapatkan 675 g serbuk. Infusa dilakukan dengan menggunakan 7.13 L air suling, dan setelah dipekatkan dengan penguapan dan *freeze drying* didapatkan ekstrak kental sebanyak 61.68 g (9.14%).

**Hasil uji Luff-Schoorl terhadap larutan ekstrak.** Senyawa dalam ekstrak air *G. lucidum* yang diharapkan memiliki aktivitas imunostimulasi adalah polisakarida. Monosakarida utama sebagai penyusun polisakarida dalam *G. lucidum* adalah glukosa<sup>(10)</sup>. Uji Luff-Schoorl adalah uji kimia kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui adanya gula pereduksi, seperti glukosa. Oleh sebab itu uji Luff-Schoorl dapat digunakan untuk menguji kandungan gula pereduksi dalam ekstrak *G. lucidum* yang diharapkan dapat menjadi indikator awal adanya kandungan polisakarida. Senyawa yang terkandung dalam reagen Luff-Schoorl adalah asam sitrat, natrium karbonat, dan Cu-sulfat. Reaksi antara gula pereduksi dengan kompleks ion Cu yang disertai pemanasan akan menghasilkan gula teroksidasi dan endapan Cu<sub>2</sub>O(s)<sup>(11)</sup>. Endapan ini berwarna merah bata yang membuktikan bahwa larutan uji positif mengandung gula pereduksi. Dari hasil penelitian, larutan ekstrak yang telah dihidrolisis yang ditambah reagen Luff-Schoorl pada awalnya berwarna hijau kekuningan, setelah dipanaskan berubah warna menjadi merah bata. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam ekstrak positif mengandung gula pereduksi sehingga diketahui bahwa ekstrak yang telah dihidrolisis mengandung monosakarida penyusun polisakarida yang diharapkan akan memberikan aktivitas imunostimulan.

**Pengaruh ekstrak *Ganoderma lucidum* terhadap persen CD8+ pada tikus yang dipejani doxorubicin.** CD8 merupakan suatu glikoprotein transmembran yang merupakan ko-reseptor bagi sel T limfosit. Sel T sitotoksik yang memiliki protein permukaan CD8 disebut sel T CD8+<sup>(12)</sup>. Sel T sitotoksik antara lain berperan dalam pengrusakan sel tumor<sup>(13)</sup>. Oleh karena itu, dalam penelitian ini profil CD8+ digunakan sebagai parameter yang dapat menggambarkan potensi imunomodulator ekstrak *G. lucidum* (EGL) sebagai

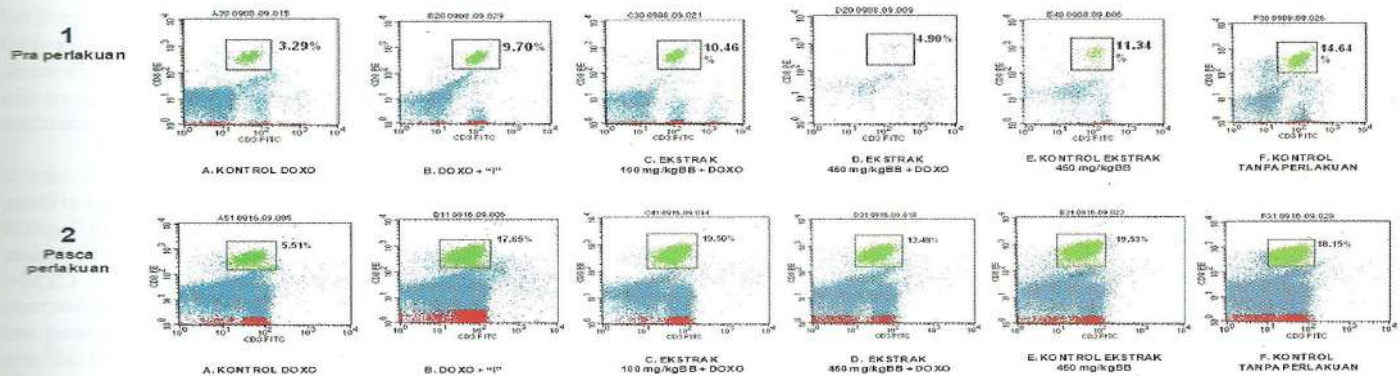
pendamping kemoterapi. Doxorubicin sebagai agen kemoterapi digunakan karena, selain merupakan agen kemoterapi yang banyak digunakan, doxorubicin juga menunjukkan efek samping penekanan sistem imun.

Analisis persentase sel limfosit T CD8+ relatif dilakukan pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) serta pada hari ke-7 (setelah perlakuan). Gambaran profil sel limfosit T CD8+ hasil *flow cytometry* dapat dilihat pada Gambar 1 yang menampilkan profil wakil dari tiap kelompok. Dilihat dari harga purata persentase sel limfosit T CD8+ relatif sebelum dan sesudah perlakuan, secara umum terlihat peningkatan persentase sel limfosit T CD8+ relatif pada semua kelompok. Selisih peningkatan kemudian dibandingkan dengan persentase sel limfosit T CD8+ sebelum perlakuan pada masing-masing kelompok untuk mendapatkan persentase peningkatan agar dapat dilakukan perbandingan antar kelompok. Perbandingan selisih peningkatan persentase sel limfosit T CD8+ relatif sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1.

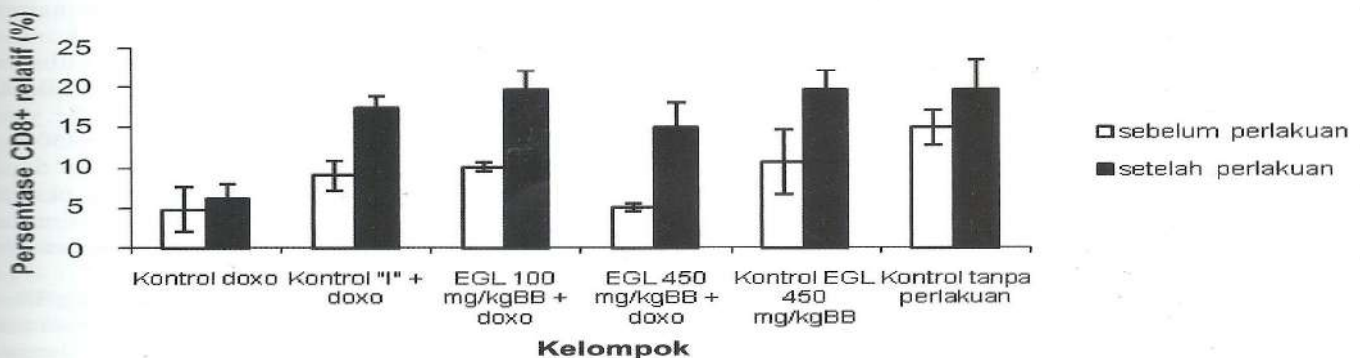
Hasil penelitian menunjukkan terjadinya

peningkatan nilai persentase sel limfosit T CD8+ relatif dalam masing-masing kelompok selain kelompok kontrol doxorubicin. Uji *paired sample t-test* dilakukan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya perbedaan tersebut. Nilai signifikansi yang ditetapkan adalah 0.05 ( $p \leq 0.05$ ). Kelompok kontrol doxorubicin menunjukkan penurunan persentase sel limfosit T CD8+ relatif (5.70%) karena pemberian doxorubicin dapat menekan sistem imun termasuk menekan produksi sel limfosit T CD8+. Tetapi penurunan tersebut tidak signifikan yang mungkin disebabkan oleh pemberian doxorubicin yang hanya dua kali dalam satu minggu, sehingga kemungkinan dalam jangka waktu tersebut doxorubicin belum menunjukkan efek penekanan sel limfosit T CD8+ yang signifikan.

Kelompok kontrol tanpa perlakuan mengalami peningkatan sebesar 45.15% yang tidak setinggi kelompok lainnya tetapi tetap menunjukkan peningkatan yang signifikan. Kelompok yang diberi produk komersil "I" bersama doxorubicin menunjukkan peningkatan persentase sel limfosit T CD8+ relatif yang signifikan sebesar 117.27%. Kelompok hewan uji yang diberi



Gambar 1. Profil peningkatan sel limfosit T CD8+ dengan *flow cytometry* yang mewakili masing-masing kelompok.



Gambar 2. Grafik perbandingan purata persentase sel limfosit T CD8+ relatif antar kelompok perlakuan.

Tabel 1. Purata persentase sel limfosit T CD8+ relatif sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok perlakuan.

Kelompok	Purata % sel limfosit T CD8+ relatif (n=4)				Keterangan
	Sebelum perlakuan (± SD)	Setelah perlakuan (± SD)	Selisih (peningkatan) (± SD)	Prosen peningkatan sel limfosit T CD8+ (± SD)	
Kontrol doxorubicin	5.38 ± 2.77	3.89 ± 1.67	-1.49 ± 3.64	-5.70 ± 59.64	Penurunan tidak signifikan
Kontrol produk komersil "I" + doxorubicin	8.74 ± 1.85	18.17 ± 1.46	9.43 ± 2.88	117.27 ± 62.72*	Peningkatan signifikan
EGL 100 mg/kgBB + doxorubicin	9.74 ± 0.55	20.26 ± 2.41	10.52 ± 2.89	109.37 ± 34.62*	Peningkatan signifikan
EGL 450 mg/kgBB + doxorubicin	4.56 ± 0.48	15.74 ± 3.02	11.18 ± 3.17	249.29 ± 83.47*	Peningkatan signifikan
Kontrol EGL 450 mg/kgBB	10.29 ± 4.00	20.47 ± 2.46	10.18 ± 2.17	117.56 ± 69.62*	Peningkatan signifikan
Kontrol tanpa perlakuan	14.64 ± 2.09	21.15 ± 3.90	6.51 ± 3.19	45.15 ± 24.57*	Peningkatan signifikan

\*) Hasil analisis statistik paired sample t-test menunjukkan perbedaan yang signifikan antara sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan dengan nilai  $p \leq 0,05$ .

ekstrak *G. lucidum* juga menunjukkan peningkatan persentase relatif sel limfosit T CD8+ yang signifikan, yaitu sebesar 117.56%. Peningkatan persentase sel limfosit T CD8+ relatif pada kelompok kontrol ekstrak *G. lucidum* menunjukkan bahwa ekstrak *G. lucidum* dapat berefek sebagai imunostimulan. Saat ekstrak *G. lucidum* dosis 100 mg/kgBB dan 450 mg/kgBB diberikan bersama doxorubicin juga terjadi peningkatan persentase relatif sel limfosit T CD8+ secara signifikan, yaitu masing-masing sebesar 109.37% dan 249.29%. Hal ini berarti ekstrak *G. lucidum* dapat berefek sebagai imunostimulan saat digunakan bersama doxorubicin yang merupakan penekan sistem imun sehingga berpotensi sebagai agen pendamping kemoterapi (kemoterapi).

Uji *one way* ANOVA dilakukan pada persentase peningkatan sel limfosit T CD8+ masing-masing kelompok. Nilai  $p \leq 0,05$  menandakan adanya perbedaan antar kelompok yang dibandingkan. Hasil uji lebih jelasnya dapat dilihat melalui tabel perbandingan persentase peningkatan sel limfosit T CD8+ antar kelompok dari hasil analisis *Post Hoc test* pada Tabel 2. Berdasarkan nilai signifikansi pada Tabel 2, kelompok kontrol doxorubicin tidak menunjukkan perbedaan persentase relatif sel limfosit T CD8+ yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol tanpa perlakuan. Hal ini mungkin disebabkan oleh frekuensi dan durasi pemberian doxorubicin yang hanya 2 kali dalam 1 minggu sehingga doxorubicin belum menunjukkan efek menekan sistem imun yang signifikan walaupun telah menunjukkan adanya penurunan sel limfosit T CD8+. Kelompok kontrol doxorubicin menunjukkan

perbedaan yang signifikan terhadap kelompok produk komersil "I" + doxorubicin, ekstrak *G. lucidum* 100 mg/kgBB + doxorubicin, serta ekstrak *G. lucidum* 450 mg/kgBB + doxorubicin. Hal ini berarti bahwa ekstrak *G. lucidum* dan produk komersil "I" mampu menjaga persentase sel limfosit T CD8+ relatif tidak menurun akibat pemberian doxorubicin.

Persentase relatif sel limfosit T CD8+ kelompok kontrol tanpa perlakuan tidak berbeda signifikan dengan kontrol ekstrak *G. lucidum* 450 mg/kgBB yang menunjukkan bahwa ekstrak *G. lucidum* tidak meningkatkan persentase relatif sel limfosit T CD8+ secara signifikan bila digunakan dalam kondisi normal (tidak ada paparan doxorubicin). Persentase relatif sel limfosit T CD8+ kelompok kontrol tanpa perlakuan tidak berbeda signifikan dengan kelompok ekstrak *G. lucidum* 100 mg/kgBB + doxorubicin. Hal ini berarti bahwa ekstrak *G. lucidum* dosis 100 mg/kgBB mampu menjaga kondisi sistem imun tetap dalam kondisi normal walaupun dipejani bersama doxorubicin. Kelompok kontrol tanpa perlakuan menunjukkan perbedaan persentase relatif sel limfosit T CD8+ yang signifikan dengan kelompok ekstrak *G. lucidum* 450 mg/kgBB + doxorubicin yang berarti bahwa selain dapat menjaga sistem imun dalam kondisi normal, ekstrak dosis ini juga mampu berefek sebagai imunostimulan saat hewan uji dipejani doxorubicin yang bersifat immunosupresan.

Kelompok ekstrak *G. lucidum* 100 mg/kgBB + doxorubicin tidak menunjukkan perbedaan persentase relatif sel limfosit T CD8+ yang signifikan dengan kontrol produk komersil "I" + doxorubicin. Hal ini

Tabel 2. Perbandingan persentase peningkatan sel limfosit T CD8+ antar kelompok dari hasil analisis *Post Hoc test*.

Kelompok		Purata % selisih peningkatan (± SD)		Perbedaan purata (I - II)	Keterangan: Nilai % sel limfosit T CD8+ relatif	
I	II	I	II			
A	B	-5.70 ± 59.64	117.27 ± 62.72	-122.97*	A lebih rendah daripada B	
	C		109.37 ± 34.62	-115.07*	A lebih rendah daripada C	
	D		249.29 ± 83.47	-254.99*	A lebih rendah daripada D	
	E		117.56 ± 69.62	-123.26*	A lebih rendah daripada E	
	F		45.15 ± 24.57	-50.85	A lebih rendah daripada F	
	B		117.27 ± 62.72	-5.70 ± 59.64	122.97*	B lebih tinggi daripada A
B	C	117.27 ± 62.72	109.37 ± 34.62	7.90	B lebih tinggi daripada C	
	D		249.29 ± 83.47	-132.02*	B lebih rendah daripada D	
	E		117.56 ± 69.62	-0.29	B lebih rendah daripada E	
	F		45.15 ± 24.57	72.12	B lebih tinggi daripada F	
	C		109.37 ± 34.62	-5.70 ± 59.64	115.07*	C lebih tinggi daripada A
C	B	109.37 ± 34.62	117.27 ± 62.72	-7.90	C lebih rendah daripada B	
	D		249.29 ± 83.47	-139.92*	C lebih rendah daripada D	
	E		117.56 ± 69.62	-8.19	C lebih rendah daripada E	
	F		45.15 ± 24.57	64.22	C lebih tinggi daripada F	
	D		249.29 ± 83.47	-5.70 ± 59.64	254.99*	D lebih tinggi daripada A
	B		117.27 ± 62.72	132.02*	D lebih tinggi daripada B	
D	C	249.29 ± 83.47	109.37 ± 34.62	139.92*	D lebih tinggi daripada C	
	E		117.56 ± 69.62	131.74*	D lebih tinggi daripada E	
	F		45.15 ± 24.57	204.14*	D lebih tinggi daripada F	
	E		117.56 ± 69.62	-5.70 ± 59.64	123.26*	E lebih tinggi daripada A
	B		117.27 ± 62.72	0.28	E lebih tinggi daripada B	
	C		109.37 ± 34.62	8.19	E lebih tinggi daripada C	
E	D	117.56 ± 69.62	249.29 ± 83.47	-131.74*	E lebih rendah daripada D	
	F		45.15 ± 24.57	72.40	E lebih tinggi daripada F	
	F		45.15 ± 24.57	-5.70 ± 59.64	50.85	F lebih tinggi daripada A
	B		117.27 ± 62.72	-72.12	F lebih rendah daripada B	
	C		109.37 ± 34.62	-64.22	F lebih rendah daripada C	
	D		249.29 ± 83.47	-204.14*	F lebih rendah daripada D	
F	E	45.15 ± 24.57	117.56 ± 69.62	-72.40	F lebih rendah daripada E	

Keterangan: A Kontrol doxorubicin  
 B Kontrol produk komersil "I" + doxorubicin  
 C Ekstrak *G. lucidum* dosis 100 mg/kgBB + doxorubicin  
 D Ekstrak *G. lucidum* dosis 450 mg/kgBB + doxorubicin  
 E Kontrol ekstrak *G. lucidum* dosis 450 mg/kgBB  
 F Kontrol tanpa perlakuan  
 \*) Hasil analisis statistik Post Hoc test menunjukkan perbedaan antar kelompok yang signifikan dengan nilai  $p \leq 0,05$

menunjukkan bahwa ekstrak *G. lucidum* dosis 100 mg/kgBB mampu berefek sebagai imunostimulan pendamping kemoterapi sebaik produk komersil "I". Kelompok ekstrak *G. lucidum* 450 mg/kgBB + doxorubicin menunjukkan peningkatan persentase relatif sel limfosit T CD8+ yang berbeda signifikan

dengan kontrol produk komersil "I" + doxorubicin. Hal ini berarti ekstrak *G. lucidum* dosis 450 mg/kgBB memiliki efek imunostimulasi sebagai pendamping kemoterapi yang lebih baik dibandingkan produk komersil "I" yang mengandung *Echinacea*.

Sel limfosit T CD8+ atau yang biasa disebut sel

T sitotoksik CD8<sup>+</sup> memiliki peranan nyata dalam menyerang dan mengeliminasi sel kanker. Penggunaan kemoterapi antimetabolit seperti doxorubicin dapat menyebabkan depresi sumsum tulang yang dapat menurunkan jumlah sel darah putih, menghambat proliferasi sel B, sel T dan makrofag melalui penurunan sekresi IL-2, TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ <sup>(14)</sup>, sehingga juga dapat menurunkan produksi sel T sitotoksik CD8<sup>+</sup>. Ekstrak *G. lucidum* dalam penelitian ini mampu menjaga purata prosentasi relatif sel limfosit T CD8<sup>+</sup> hewan uji saat dipejani doxorubicin. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh peran dari polisakarida *G. lucidum*. Senyawa  $\beta$ -D-glucan dari polisakarida *G. lucidum* mampu berikatan dengan permukaan sel limfosit melalui reseptor spesifik atau serum protein spesifik, yang kemudian memodifikasi aktivitas dari makrofag, sel T *helper*, sel NK dan sel-sel efektor lainnya<sup>(15)</sup>. Komponen polisakarida larut air dalam *G. lucidum* juga memiliki aktivitas antitumor dan dapat menstimulasi ekspresi sel limfosit T CD4<sup>+</sup> dan sel T *count* selama atau setelah kemoterapi<sup>(16)</sup>. Dalam penelitian ini, tetap seimbang persentase relatif sel limfosit T CD8<sup>+</sup> kemungkinan disebabkan oleh stimulasi ekspresi sel limfosit T CD4<sup>+</sup> oleh polisakarida yang terkandung dalam ekstrak *G. lucidum* tersebut.

Sel limfosit T CD4<sup>+</sup> atau yang biasa disebut sel T *helper* CD4<sup>+</sup> memiliki peran penting dalam aktivitas sel sitotoksik CD8<sup>+</sup>. Sel ini mampu meningkatkan aktivitas antitumor dari sel sitotoksik CD8<sup>+</sup> dengan cara memproduksi sitokin yang merupakan *molecules signaling* dan dapat mengaktifasi sel-sel imun lain. Subset dari sel T *helper* CD4<sup>+</sup> yaitu sel TH1 menghasilkan IL-2 dan IFN- $\gamma$  yang menstimulasi respons imun melawan sel tumor dan patogen intraselular melalui aktivasi sel T sitotoksik CD8<sup>+</sup><sup>(14)</sup>. Peran T *helper* CD4<sup>+</sup> ternyata memiliki kaitan erat dengan aktivitas sel T sitotoksik CD8<sup>+</sup> sehingga pada penelitian selanjutnya pengamatan terhadap sel limfosit T CD4<sup>+</sup> juga perlu dilakukan.

### SIMPULAN

Ekstrak air *G. lucidum* mampu meningkatkan persentase sel limfosit T CD8<sup>+</sup> relatif pada tikus yang dipejani doxorubicin, sehingga *G. lucidum* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen imunostimulasi pendamping kemoterapi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Universitas Gadjah Mada melalui Hibah Penelitian Dosen Muda Tahun 2009 dan Fakultas Farmasi UGM melalui Hibah Penelitian Non Kompetitif Tahun 2010 yang telah membiayai

penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Brundtland GH. Global cancer rates could increase by 50% to 15 million by 2020; 2003. diambil dari [www.who.int](http://www.who.int). diakses 29 November, 2010.
2. Patel D, Shukla S, Gupta. Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential, promise (Review). *Int J Oncol*. 2007. 30:233-45.
3. Zhang X, Li WG, Wu YJ, Gao MT. Amelioration of doxorubicin induced myocardial oxidative stress and immunosuppression by grape seed proanthocyanidins in tumor bearing mice. *J Pharm Pharmacol*. 2005. 57(8):1043-51.
4. Sliva D. *Ganoderma lucidum* in cancer research. *Leukemia Research*. 2006. 30:767-8.
5. Lin Z. Cellular and molecular mechanism of immunomodulation by *Ganoderma lucidum*. *J Pharmacol Sci*. 2005. 99:144-53.
6. Pillai TG, Salvi VP, Maurya DK, Nair CKK, Janardhanan. Prevention of radiation-induced damages by aqueous extract of *Ganoderma lucidum* occurring in southern parts of India. *Current Science*. 2006. 91(3):341-4.
7. Anonim. MIMS Indonesia Petunjuk Konsultasi. Edisi 7. Jakarta: PT. Info Master; 2008. 252.
8. Ikawati I, Fitria M, Fauzi IG. Ekstrak etanolik daun awar-awar (*Ficus septica* Burm. F.) sebagai imunomodulator pada tikus galur Sprague Dawley yang dipejani doxorubicin [laporan penelitian PKM-P]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2009.
9. Anonim. *Ganoderma lucidum*'s anti cancer properties investigated; 2003. diambil dari <http://www.thehealthierlife.co.uk>. diakses 29 November, 2010.
10. Liang JB, Chen X, Wang J, Cheng B. HPLC determination of monosaccharide composition of *Ganoderma lucidum* polysaccharides [abstract]. *Chin J Pharm Anal*. 2008. diambil dari [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YWFX200811022.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YWFX200811022.htm). diakses 29 November, 2010.
11. Anonim. Determination of reducing sugar by Luff-Schoorl's methods. 2002. diambil dari <http://www.starch.dk/isi/methods/28luff.htm>. diakses 29 November, 2010.
12. Anonim. CD8. 2009. diambil dari [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com). diakses 29 November, 2010.
13. Anonim, T Cell. 2009. diakses dari [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com). diakses 29 November, 2010.
14. Gabriel JA. The biology of cancer. 2nd ed. England: John Wiley & Sons LTD; 2007.
15. Lin ZB, Zhang HN. Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanism [review]. *Acta Pharmacol Sin*. 2004. 25(11):1387-95.
16. Wang YY, Khoo KH, Chen CC, Wong CH, Lin CH, Chen HS, *et al*. Immuno-modulating antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides. US patent 7135183. 2006.