

Pengaruh Ekstrak *Bryophyllum pinnatum* Terhadap Jumlah Sel B Matur dan Kadar Anti dsDNA Pada Mencit BALB/c Model Lupus Bunting

Aminah Maya

Program Studi DIII Kebidanan STIKes Muhammadiyah Palembang

Jalan Jendral Ahmad Yani 13 Ulu Palembang

Email: mayachabie@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang : Systemic Lupus Eritematosus (SLE) adalah suatu penyakit autoimun kronis yang lebih banyak diderita oleh wanita terutama pada usia reproduktif. Penelitian in silico melalui molecular docking menemukan bahwa kandungan senyawa aktif yang dimiliki oleh tanaman cocor bebek (Bryophyllum pinnatum) memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi terapi biosimilar.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan melihat peran ekstrak daun Bryophyllum pinnatum terhadap jumlah sel B matur dan kadar anti dsDNA pada mencit BALB/c model lupus bunting.

Metode : Rancangan penelitian yang digunakan adalah true experimental dengan pendekatan post test only control group design. Sampel penelitian ini adalah mencit galur BALB/c yang berjumlah 20 ekor, dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Pengukuran Jumlah Sel B matur dilakukan dengan metode flowsitometri dan kadar anti dsDNA diukur dengan metode ELISA. Hasil: Jumlah sel B matur menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada kelima kelompok sampel dengan Pvalue = 0.029, dilanjutkan dengan uji LSD dan didapatkan hasil ada perbedaan signifikan dari pengaruh dari pemberian ekstrak daun Bryophyllum pinnatum dosis I,II,III terhadap jumlah sel B matur. untuk kadar anti dsDNA menunjukkan ada perbedaan yang bermakna kadar pada kelima kelompok sampel dengan Pvalue= 0.000, dilanjutkan dengan uji LSD dan didapatkan hasil ada perbedaan signifikan dari pengaruh dari pemberian ekstrak daun Bryophyllum pinnatum dosis I,II,III terhadap kadar anti dsDNA. Kesimpulan : pemberian ekstrak daun Bryophyllum pinnatum terbukti dapat menurunkan jumlah sel B matur, namun tidak terbukti dapat menurunkan kadar anti dsDNA pada mencit BALB/c model lupus bunting.

Kata kunci : Ekstrak Daun *Bryophyllum pinnatum*; Jumlah Sel B Matur; Kadar Anti dsDNA

Abstract

Background: Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease that affects more women, especially at reproductive age. In silico research through molecular docking found that the content of the active compound possessed by the Coco Duck plant (Bryophyllum pinnatum) has the potential to be developed into biosimilar therapy.

Objective: This study aims to look at the role of Bryophyllum pinnatum leaf extract on mature B cell counts and anti-dsDNA levels in BALB / c mice in pregnant lupus models.

Method: The research design used was true experimental with a post test only control group design approach. The samples of this study were 20 BALB / c strains of mice, and grouped into 5 groups. Measurement of the number of mature B cells is done by the flowsitometry method and anti dsDNA levels are measured by the ELISA method. Results: The number of mature B cells showed that there were significant differences in the five sample groups with Pvalue = 0.029, followed by the LSD test and the results showed a significant difference from the effect of the administration of Bryophyllum pinnatum leaf extracts dose I, II, III on the number of mature B cells. the anti dsDNA levels showed significant differences in the levels of the five sample groups with Pvalue = 0.000, continued with the LSD test and the results showed a significant difference from the effect of the administration of Bryophyllum pinnatum leaf extracts dose I, II, III to the anti dsDNA levels. Conclusion: Bryophyllum pinnatum leaf extract was proven to reduce the number of mature B cells, but it was not proven to reduce levels of anti-dsDNA in BALB / c mice in pregnant lupus models.

Keywords: Bryophyllum pinnatum Leaf Extract; Matured B Cell Counts; Anti-dsDNA Levels

PENDAHULUAN

Systemic Lupus Eritematosus (SLE) adalah suatu penyakit autoimun kronis yang lebih banyak diderita oleh wanita dan dapat menyebabkan kerusakan pada beberapa organ. Penyakit ini terutama menyerang wanita usia produktif dengan perbandingan wanita: laki-laki yaitu 9:1 (Varghese, 2011). Penyakit SLE yang kebanyakan terjadi pada wanita usia reproduksi seringkali menimbulkan masalah kesehatan terutama pada masa kehamilan yang dapat membahayakan kondisi ibu dan janin (Kwok, 2011). Komplikasi yang terjadi pada penderita SLE selama kehamilan ini perlu mendapatkan perhatian yang serius karena keterlambatan diagnosis dan terapi dapat menyebabkan terjadinya kematian ibu dan janin (Wallace, 2007). Kemajuan teknologi dalam bidang kedokteran saat ini telah dapat mengembangkan berbagai macam terapi baru untuk penyakit auto imun dengan menggunakan agen biologis (Merril, 2010). Terapi agen biologis adalah terapi dengan menggunakan antibody monoklonal yang ditargetkan pada suatu molekul, seperti sitokinataureseptor pada sel tertentu untuk menginaktivasi kerja molekul tersebut. Terapi agen biologis telah dibuktikan pada uji preklinis maupun trial klinis dapat menghambat perkembangan

penyakit dan mencegah terjadinya komplikasi pada berbagai penyakit auto imun, seperti arthritis reumatoid dan SLE (Rocatello, 2011 dan Fitri, 2015)

Pengobatan standar pasien SLE saat ini ditujukan untuk menekan respon imun dan inflamasi yang berlebihan dengan menggunakan obat-obat imuno supresan. Pengobatan yang relative sama diberikan pada penderita lupus baik sebelum maupun selama masa kehamilan. Namun terapi tersebut harus mempertimbangkan risiko kejanin (Fitri, 2015). Obat-obat imuno supresan umumnya diberikan dalam jangka waktu yang lama atau bahkan seumur hidup sehingga sangat perlu mempertimbangkan efek samping yang ditimbulkan (Wallace, 2007). Oleh karena itu, diperlukan suatu terapi alternatif yang memiliki efektivitas yang serupa dengan agen biologis. Beberapa tahun terakhir ini telah dikembangkan suatu model terapi baru yang disebut dengan terapi biosimilar.

Penelitian *in silico* melalui *molecular docking* (Kusworini, 2014) menemukan bahwa kandungan senyawa aktif yang dimiliki oleh tanaman cocor bebek (*Bryophyllum pinnatum*) memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi terapi biosimilar. Senyawa aktif pada daun cocor bebek yaitu *bryophyllin A*, *bryophyllin B*,

bryophillin C, dan *bryotoxin B* memiliki kemampuan untuk melakukan *docking* dengan afinitas energi yang besar pada *B cell activating factor* (BAFF) dan *a proliferation inducing ligand* (APRIL) yang merupakan ligan utama yang berperan dalam maturasi dan proliferasi sel B serta produksi autoantibodi pada SLE (Mackay, 2009 dan Liu, 2011). Oleh karena itu, tanaman tersebut berpotensi untuk menjadi obat kompetitif inhibitor untuk mencegah ikatan ligan BAFF dan APRIL pada reseptornya sehingga diharapkan dapat menurunkan aktivasi sel B yang berdampak pada menurunnya produksi autoantibodi yang berperan pada SLE yang salah satunya adalah antibodi *anti double strain Deoxy Nucleic Acid* (dsDNA).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dengan Rancangan penelitian yang digunakan adalah true experimental (eksperimental sesungguhnya) dan pendekatan post test only control group design.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini

dilakukan pada Bulan Maret sampai September 2016.

Subjek Penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah mencit bunting galur BALB/c betina (20-25 gr) usia 10-12 minggu jumlah 20 ekor yang diperoleh dari LPPT Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok : kelompok control negatif (mencit bunting sehat), kelompok control positif (mencit bunting lupus), kelompok perlakuan I (mencit bunting lupus + ekstrak *Bryophillumpinnatum* dosis 10,5 mg/hari), kelompok perlakuan II (mencit bunting lupus + ekstrak *Bryophillumpinnatum* dosis 21 mg/hari), dan kelompok perlakuan III (mencit bunting lupus + ekstrak *Bryophillumpinnatum* dosis 42 mg/hari). Mencit diadaptasi selama 7 hari, kemudian diinjeksi pristana 0,5 mg, setelah lebih dari 12 minggu dan mempunyai hasil tes ANA yang positif maka mencit dibuntingkan. Pada hari ke 9 gestasi mencit diberi ekstrak daun *Bryophillumpinnatum*.

PROSEDUR

Mencit Lupus Bunting

Pembuatan mencit model lupus dilakukan dengan cara menyuntikan pristana 0,5 ml secara intra peritoneal satu kali selama penelitian dan dilakukan setelah masa aklimasi selesai yaitu setelah hari ke 7.

Prose pembuntingan dilakukan dalam 3 tahap : LeeBoot effect, pheromon effect, dan whitten effect. Mencit dikawinkan dengan mencit jantan dengan perbandingan 2 mencit betina dan 1 mencit jantan selama 1 malam. Plug vagina di periksa pada pagihari. Betina yang menunjukkan plug vagina postif (VP+) segera dipisahkan dengan jantan. Hari terlihatnya VP+ dianggap sebagai hari ke 1 gestasi

Proses Ekstraksi

Daun *Bryophillumpinnatum* kering diperoleh dari UPT Materia Medika Batu Malang. Daun kering *Bryophillum pinnatum* diproses dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% di laboratorium farmakologi FKUB. Hasil ekstraksi berupa ekstrak kental (pasta) dan diencerkan dengan normal saline

Pemberian Ekstrak

Bryophillumpinnatum

Ekstrak *Bryophillumpinnatum* yang telah di encerkan diberikan secara oral dengan sondek husus selama 10 hari/masa kehamilan mencit dengan dosis 10,5 mg/hari, 21 mg/hari, 42 mg/hari.

Prosedur Pemeriksaan Jumlah Sel B Matur

Secara keseluruhan prosedur pewarnaan dilakukan berdasarkan prosedur dari pabrik Biolegend. Selanjutnya dilakukan koneksi dengan komputer dan flowsito meter yang diatur sesuai dengan parameter yang akan

dianalisa. Sampel yang sudah diinkubasi dengan anti bodi ditambah 300 iL PBS dan ditempatkan pada kuvetflowsitometer. Selanjutnyadipilih acquire dan flowcytometer untukmenghitung jumlah sel total serta jumlah sel yang terdeteksi oleh label antibodi. Hasil yang diperoleh selanjutnya diolah dengan BD cellquest Pro.

Prosedur Pemeriksaan Kadar Anti dsDNA

Pemeriksaan kadar dsDNA dilakukan setelah tikus diterminasi dan diambil serum darahnya sebanyak1 cc dan kemudian dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan metode ELISA. Kemudian langkah kerjadi sesuaikan dengan panduan yang tertera dalam kit antibodi Mouse anti-double strain DNA (dsDNA IgG) ELISA kit,katalog nomor CSB-E11194 m (96 tes).

Data, Intrumen, dan Teknik Pengumpulan Data

Untuk pengukuran jumlah sel B matur, dilabel dengan pewarnaan antibodi FITC Antimouse CD19⁺ dan PE Antimouse CD22⁺. Pemeriksaan kadar dsDNA dilakukan dengan menggunakan kit antibodi Mouse anti-double strain DNA (dsDNA IgG) ELISA kit,katalog nomor CSB-E11194 m (96 tes).

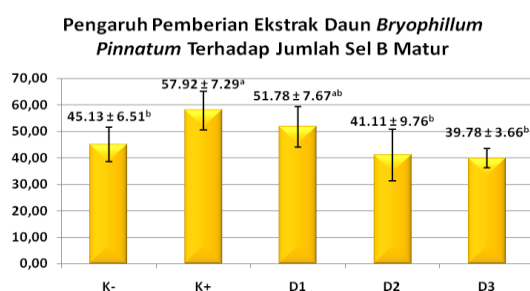
Teknik Analisis Data

Analisa Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan *software* SPSS 17.0. Data diuji normalitas dan homogenitas, dilanjutkan dengan teknik analisis data yang dilakukan untuk mengetahui perbedaan tekanan darah dan kadar albumin urin pada kedua kelompok dengan menggunakan uji beda *independent t test*

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh Ekstrak Daun *Bryophillum pinnatum* Terhadap Jumlah Sel B Matur Yang Terbentuk Pada Mencit BALB/c Model Lupus Bunting Dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan LSD

- Dari hasil uji anova didapatkan nilai probabilitas sebesar 0.029 (< 0.05) dan dapat disimpulkan bahwa terdapat minimal satu pasang kelompok dari kelima kelompok di atas yang memiliki perbedaan jumlah Sel B matur yang signifikan
- Hasil Uji LSD

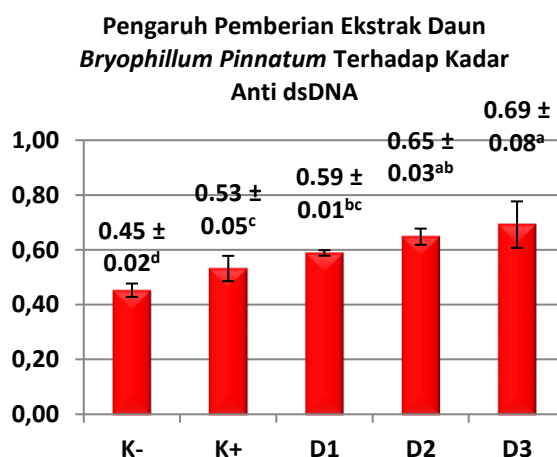


kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun *Bryophillum pinnatum* dosis 42 mg/hari menghasilkan persentase sel B matur yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif.

2. Pengaruh Ekstrak Daun *Bryophillum pinnatum* Terhadap Kadar Anti dsDNA Pada Mencit BALB/c Model Lupus Bunting Dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan LSD

- Dari hasil uji anova didapatkan nilai probabilitas sebesar 0.000 (< 0.05) dan dapat disimpulkan bahwa terdapat minimal satu pasang kelompok dari kelima kelompok di atas yang memiliki perbedaan kadar Anti dsDNA yang signifikan

b. Hasil Uji LSD



Hasil analisa di atas menginformasikan bahwa kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun *Bryophillum pinnatum* dosis

42 mg/hari paling optimal dalam meningkatkan kadar anti dsDNA dan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* dosis 10.5 mg/hari.

PEMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak Daun *Bryophyllum pinnatum* Terhadap Jumlah Sel B Matur

Dari penelitian ini didapatkan hasil jumlah sel B matur pada kelompok kontrol positif lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal serupa juga ditunjukkan oleh hasil penelitian yang dilakukan terhadap 30 mencit BALB/c yang dibagi kedalam dua kelompok perlakuan (kelompok mencit SLE yang diberi induksi pristana dan kelompok kontrol sehat). Dari penelitian tersebut didapatkan hasil persentase jumlah sel B pada kelompok mencit yang diinjeksi pristana lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Kalim, 2014). Mekanisme pristana yang dapat menginduksi SLE dimungkinkan karena kemampuannya dalam menginduksi sel *dendritic plasmacytoid* (pDC) untuk menginduksi IFN tipe I (Pace, 2010). Pristana secara eksklusif mampu

menginduksi IFN tipe satu melalui jalur TLR7. IFN tipe I juga ditemukan memiliki peran dalam proses kerja dari sistem imun adaptif. Pace *et al.* (2010) menemukan bahwa IFN tipe I khususnya IFN- α memiliki kemampuan untuk menginduksi APC yang mampu menurunkan fungsi Treg dan meningkatkan fungsi sel Th (Giordani, 2009). IFN- α juga meningkatkan aktivasi sel B naif dan produksi antibody (Postal, 2013). Pengaruh peningkatan hormone dalam kehamilan khususnya estrogen diketahui juga dapat meningkatkan jumlah sitokin proinflamasi, termasuk sitokin dari Th2 yang berhubungan dengan peningkatan aktivitas dari sel B. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* terhadap jumlah sel B. Berdasarkan hasil penelitian, maka didapatkan ada perbedaan bermakna antara rerata jumlah sel B pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok perlakuan (pemberian ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* dosis 10,5 mg/hari, 21 mg/hari, dan 42 mg/hari). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* dapat menurunkan jumlah sel B matur secara signifikan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kusworini dkk. (2014) yang menyatakan bahwa

senyawa metabolit *Bryophillin A* yang terdapat pada daun *Bryophillumpinnatum* dapat berikatan baik dengan *B Cell Maturation Protein* (BCMA) dan hal tersebut dapat menghambat terjadinya proses maturase darisel B sehingga sel B matur yang dihasilkan lebih sedikit (Kusworini, 2014). Pada SLE, APC dan fungsi stimulasinya berperan dalam aktivasi sel auto reaktif Th1, Th17, dan sel B yang diregulasi oleh factor transkripsi *NF-kB* sehingga dibutuhkan suatu zat aktif yang dapat menghambat aktivitas *NF-kB*. Hasil penelitian menunjukkan mekanisme *quercetin* dari ekstrak daun *Bryophillumpinnatum* dapat menekan sitokin proinflamasi *TNF- α* dan ekspresi protein melalui *down* regulasi dari ekspresi gen *NF-K β 1* (Cui, 2006). Analisis lebih lanjut menunjukkan *quercetin* dapat menurunkan dapat menurunkan aktivitas dari NF-K β sehingga akan menghambat autoreaktivitas dari Sel B.

Pengaruh Ekstrak Daun *Bryophillumpinnatum* Terhadap Kadar Anti dsDNA

Hasil penelitian ini membuktikan kadar anti dsDNA pada kelompok kontrol positif lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa injeksi tunggal 0,5 mL pristan pada mencit BALB/c secara intraperitoneal dapat meningkatkan kadar

autoantibodi anti-dsDNA dan ANA pada bulan ke-3 dan bulan ke-4 (Satoh, 1996). Studi lain yang dilakukan oleh Satoh *et al.* (2000) menunjukkan bahwa hampir seluruh strain mencit ternyata memiliki suseptibilitas terhadap munculnya autoantibodi SLE setelah diinduksi oleh pristan, meliputi anti-Sn, anti dsDNA, dan beberapa antibodi lainnya (Sacher, 2004). Beberapa penelitian lain menunjukkan terdapat hubungan timbal balik antara kadar hormon estrogen dengan sistem imun. Estrogen mampu mengaktivasi sel B poliklonal sehingga mengakibatkan produksi autoantibodi berlebihan pada pasien SLE. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Bryophillum pinnatum* dapat meningkatkan kadar anti dsDNA pada mencit kelompok perlakuan yang diinjeksi pristan dan diberi ekstrak daun *Bryophillum pinnatum*. Rerata kadar anti dsDNA semakin meningkat sejalan dengan semakin tingginya dosis yang diberikan. Hal ini berbanding terbalik dengan hasil temuan sebelumnya pada penelitian ini, yaitu semakin menurunnya jumlah Sel B matur jika dosis *Bryophillum pinnatum* ditambahkan. Dari hasil penelitian ini diasumsikan bahwa docking *Bryophillum pinnatum* yang menyekat ikatan BAFF dan APRIL dengan reseptornya (BAFF-R, TACI, BCMA) dapat menghambat proses maturasi sel B,

tetapi juga memicu aktivasi sel B dengan menginduksi molekul-molekul asesori seperti CD21, CD40, CD 45, CD81 yang berperan dalam proses aktivasi sel B, serta sitokin proaktivasi lainnya seperti IL-2 (IL-2R α , IL-2R β), dan IL-21 (IL-21R). Dari hasil penelitian ini, peneliti berasumsi bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* berfungsi sebagai aktivator pada proses aktivasi sel B yang menyebabkan semakin meningkatnya aktivasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma sehingga terjadi peningkatan jumlah sel plasma dan diikuti peningkatan produksi antibodi Anti dsDNA

Kesimpulan

Pemberian ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* terbukti dapat menurunkan jumlah sel B matur, namun tidak terbukti dapat menurunkan kadar anti ds DNA pada mencit BALB/c model lupus bunting

Saran

Perlu dilakukan uji insilico lanjutan untuk mengetahui sifat dari ikatan afinitas metabolit sekunder *Bryophyllum pinnatum* dengan reseptor dari BAFF dan APRIL, apakah bersifat aktivator atau inhibitor dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat peran ekstrak daun

Bryophyllum pinnatum terhadap jumlah sel plasma yang dihasilkan pada mencit model lupus bunting.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristek Dikti yang telah memberi dukungan **financial** terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Varghese stephy, Crocker Ian, Bruce N Ian & Tower Clare. 2011. *Systemic Lupus Erythematosus, Regulatory T Cells and Pregnancy*
2. Kwok L.W, Tam L.S, Zhu TY, Leung Y.Y & Li EK. 2011. *Predictors of Maternal and Fetal Outcomes in Pregnancies of Patients with Systemic Lupus Erythematosus*. dipublikasikan dalam jurnal permissions 2011. Diunduh tanggal 07 Juli 2015.
3. Wallace, Daniel J. 2007. *The Clinical Presentation of Systemic Lupus Erythematosus; Differential Diagnosis and Disease Association*. In: Wallace, Daniel J, Hahn, Bevr Hannahs. *Dubois' Lupus Erythematosus 7th ed*. California: Lippincott Williams & Walkins
4. Merrill, J.T., Neuwelt, C.M., Wallace, D.J., et al. 2010. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis and Rheumatism*, **62**(1): 222-33
5. Rocatello, D., Sciascia, S., Rossi, D., et al. 2011. Intensive short-term treatment with rituximab, cyclophosphamide and methylprednisolone pulses induces remission in severe cases of SLE with nephritis and avoids further immunosuppressive maintenance therapy. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 26: 3987-92

6. Fitri, L.E., Sardjono, T.W., Rahmah, Z., Siswanto, B., Kusworini, H., Dachlan, Y.P. 2015. Low Fetal Weight is Directly Caused by Sequestration of Parasites and Indirectly by IL-17 and IL-10 Imbalance in the Placenta of Pregnant Mice with Malaria. *Korean J Parasitol.* **53**(2): 189-196
7. Kusworini dan Mirza Z.P. 2014. Pengujian Ekstrak Cocor Bebek Terhadap Maturasi dan Apoptosis Sel B Mencit Balb/c Diinduksi Pristane Sebagai Pengembangan Terapi Biosimilar Untuk Lupus. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
8. Mackay, F., Schneider, P. 2009. Cracking the BAFF code. *Nat Rev Immunol*, 9: 491-502
9. Liu, Z., Davidson, A. 2011. BAFF and selection of autoreactive B cells. *Trends Immunol*, 32: 388-394
10. Kalim, H. 2014. Pengembangan Hewan Model Lupus Eritematosus Sistemik Menggunakan Mencit Balb/C Yang Diinduksi Pristane. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
11. Pace L, Vitale S, Dettori B, et al. 2010. APC activation by IFN- α decreases regulatory T cell and enhances Th cell functions. *J Immunol* .**184**(11): 5969-79
12. Giordani L, Sanchez M, Libri I, Quaranta MG, Mattioli B, Viora M. 2009. IFN-alpha amplifies human naive B cell TLR-9-mediated activation and Ig production. *J Leukoc Biol.* **86**(2): 261-71
13. Postal, M., Pelicari, K. O., Sinicato, N. A., Marini, R., Costallat, L. T. L., Appenzeller, S., 2013. Th1/Th2 cytokine profile in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Cytokine.* **61**(3): 785-791
14. Cui, G. M., Liu, G., Liu, W., Kan, B., Mao, Y. Q., Wei, Y. Q. 2006. [Experimental study of pristane-induced murine lupus model]. *Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban Journal of Sichuan University. Medical science edition*, **37** (2): 309-312
15. Satoh, M., Hamilton, K.J., Amani, A.K., Dong, X., Wang, J., Kanwar, Y.S., Reeves, W.H. 1996. Autoantibodies to ribosomal P antigens with immune complex glomerulonephritis in SJL mice treated with pristane. *J immunol*, **157**(7): 3200-3206
16. Sacher, R.A., McPherson, R.A. 2004. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium edisi 11, diterjemahkan oleh Pendit BU; Wulandari D. Protein serum dan plasma. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. ;311-9