

**LAPORAN AKHIR**  
**PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**Potensi Ekstrak Rumput Kebar (*Biophytum Petersianum*) Dalam  
Mencegah Penurunan Fungsi Otak Anak Mencit (*Mus musculus*)  
Masa Laktasi Yang Terpapar Karbofuran**

**Dr. Epy Muhammad Luqman, Drh., M.Si (NIDN. 0013126703)**  
**Dr. Eka Pramytha Hestianan, M.Kes., Drh (NIDN. 0016036406)**

**Dibiayai oleh:**  
**Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat**  
**Direktorat Jemdral Penguatan Riset dan Pengembangan**  
**Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi**  
**Sesuai dengan Kontrak Penelitian: 745/UN3.14/PT/2020**  
**Desember, 2020**

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

**C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme ekstrak rumput kebar (*biophytum petersianum*) dalam mencegah kematian sel otak otak anak mencit (*Mus musculus*) yang terpapar karbofuran selama masa laktasi yang dapat menurunkan fungsi reflek, motorik dan memori. Residu metabolit karbofuran dapat menyebabkan penurunan fungsi otak bayi dan daya konsentrasi pada anak. Rumput kebar (*biophytum petersianum*) mempunyai bahan aktif antioksidan berpotensi dalam memutus reaksi berantai radikal bebas dan *ameliorative*. Penelitian eksperimental laboratoris ini menggunakan 100 ekor mencit dan karbofuran disuntikan secara gavage menggunakan fraksi LD<sub>50</sub> pada mencit sebesar 5 mg/Kg BB. Induk yang dipapar pada masa laktasi hari ke 1–14 diikuti dengan pemberian ekstrak rumput kebar (*biophytum petersianum*) dengan dosis 0,045, 0,090 dan 0,135 mg/g BB. Anak mencit umur 15 hari dikorbankan dan dibuat sediaan histopatologik. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan menghitung jumlah sel neuron dan sel glia yang mengekspresikan P53, Bax, Caspase 8, dan 10 menggunakan immunohistokimia dan kematian nekrosis menggunakan pewarnaan HE. Jenis sel yang diamati adalah sel neuron dan sel glia pada korteks serebrum serta selsel Purkinje dan sel glia pada serebelum. Anak mencit umur 10, 20 dan 30 hari dilakukan uji fungsi reflek dan motorik otak (*neurobehavioral test*) anak mencit umur meliputi: menghindari jurang dan geotaksis negatif, berenang, mengangkat badan, anggota belakang dan pengujian memori menggunakan *radial arm maze*. Hasil pengukuran sel neuron yang mengekspresikan, P53, Bax, Caspase 8, dan 10 serta kematian nekrosis dianalisis dengan uji ANAVA dan uji t-Dunnet dan persentase keberhasilan kemampuan reflek, motorik dan memori anak mencit diambil nilai rerata dan dianalisis uji Kruskal-Wallis, uji Multiple Comparison dan disajikan secara deskriptif. Penelitian ini telah menghasilkan data kematian nekrosis sel neuron dengan pewarnaan HE dan data uji fungsi reflek dan motorik otak (*neurobehavioral test*) anak mencit umur meliputi: menghindari jurang dan geotaksis negatif, berenang, mengangkat badan, anggota belakang dan pengujian memori menggunakan *radial arm maze*. Adapun data penelitian tersaji di bawah ini:

Kata kunci: ekstrak *biophytum petersianum*, neuron, laktasi, reflek motorik, memori.

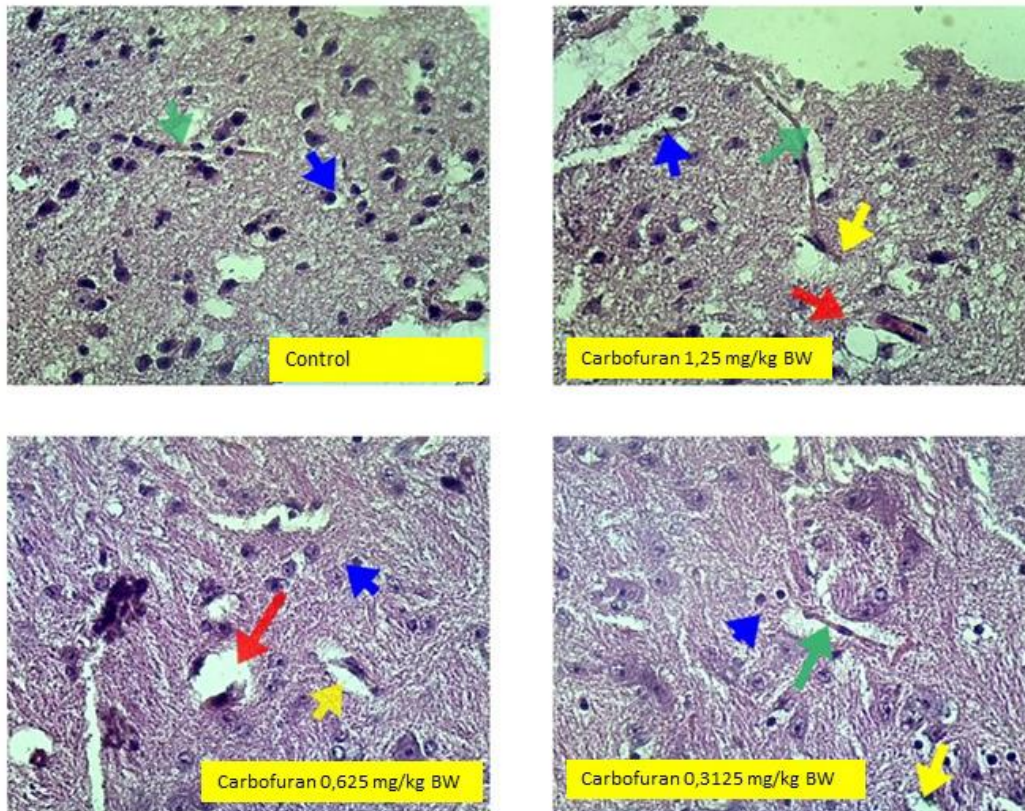
Tabel 1. Jumlah nekrosis sel neuron, Surface Righting Reflex, posisi sudut kepala dan arah berenang anak mencit umur 10 hari serta uji 8-Arm Radial Maze anak mencit umur 20 hari dari induk yang dipapar karbofuran

Variabel	Kontrol	Karbofuran 1.25 mg/kg BB	Karbofuran 0.625 mg/kg BB	Karbofuran 0.3125 mg/kg BB
Nekrosis sel neuron (mean±SD)	29.28±2.74 <sup>a</sup>	46.56±7.21 <sup>b</sup>	46.16±6.69 <sup>b</sup>	41.44±6.11 <sup>b</sup>
Surface Righting Reflex (mean±SD)	0.68±0.06 <sup>a</sup>	1.96±0.10 <sup>d</sup>	1.60±0.20 <sup>c</sup>	0.98±0.01 <sup>b</sup>
Posisi sudut kepala (mean±SD)	3.00±0.01 <sup>a</sup>	2.14±0.37 <sup>b</sup>	2.14±0.37 <sup>b</sup>	2.28±0.48 <sup>b</sup>
Arah berenang (mean±SD)	3.00±0.01 <sup>a</sup>	2.14±0.37 <sup>b</sup>	2.25±0.53 <sup>a</sup>	2.85±0.37 <sup>a</sup>
8-Arm Radial Maze (mean±SD)	1.00±0.07 <sup>a</sup>	0.85±0.11 <sup>c</sup>	0.86±0.07 <sup>c</sup>	0.92±0.06 <sup>b</sup>

## HASIL

Dalam penelitian ini karbofuran dapat meningkatkan nekrosis sel neuron antara kontrol dan perlakuan ( $p < 0.05$ ). Semakin tinggi dosis karbofuran yang dipapar semakin tinggi pula jumlah sel neuron yang mengalami nekrosis meski tidak berbeda nyata diantara perlakuan (Tabel 1). Gerakan *Surface Righting Reflex* berbeda

signifikan antar kelompok, gerakan *Surface Righting Reflex* semakin lama seiring dengan dosis karbofuran yang diberikan ( $p < 0.05$ ) (Tabel 1). Gerakan berenang menurut posisi sudut kepala juga menurun signifikan antara kontrol dengan perlakuan ( $p < 0.05$ ) meski tidak berbeda antar kelompok perlakuan (Tabel 1). Gerakan berenang menurut arah berenang juga menurun signifikan antara kontrol dengan perlakuan ( $p < 0.05$ ) khususnya pada dosis tertinggi (Karbofuran 1.25 mg/kg BB), sedang pada dosis rendah dan moderat tidak berbeda dengan kontrol (Tabel 1). Pada uji memori menggunakan *8-Arm Radial Maze* menunjukkan penurunan signifikan antara kontrol dan perlakuan. Penurunan kemampuan memori seiring dengan peningkatan dosis meski dosis tertinggi tidak berbeda dengan dosis moderat ( $p < 0.05$ ) (Tabel 1).



**Gambar 1.** Gambaran histologi serebellum anak mencit dari induk yang dipapar karbofuran pada hari ke 0-9 masa laktasi (panah merah : astrosit, panah kuning: oligodendrosit, panah hijau: mikroglia, panah biru: neuron - Perbesaran 400x) (Christine et al., 2010) (13).

Tabel 2. Hasil Ekspresi P53, Bax, Caspase 8, dan 10 otak anak mencit dari induk yang dipapar karbofuran masa laktasi

Perlakuan	P53 (mean)	Bax (mean)	Caspase 8 (mean)	Caspase 10 (mean)
K	0,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>f</sup>	0,00 <sup>f</sup>
P1	5,20 <sup>a</sup>	5,20 <sup>a</sup>	5,20 <sup>a</sup>	6,20 <sup>a</sup>
P2	4,80 <sup>a</sup>	5,20 <sup>ab</sup>	4,80 <sup>b</sup>	5,80 <sup>b</sup>
P3	2,40 <sup>c</sup>	2,80 <sup>cd</sup>	1,60 <sup>de</sup>	2,60 <sup>de</sup>
P4	2,00 <sup>c</sup>	2,80 <sup>d</sup>	1,20 <sup>e</sup>	2,20 <sup>e</sup>
P5	3,60 <sup>b</sup>	4,80 <sup>bc</sup>	3,20 <sup>bc</sup>	4,20 <sup>bc</sup>
P6	3,20 <sup>b</sup>	3,60 <sup>c</sup>	3,20 <sup>cd</sup>	4,20 <sup>cd</sup>

**Keterangan :** K (kelompok kontrol aquadest), P1 (Karbofuran 1/4 LD<sub>50</sub> 0,0125 mg/hari), P2 (karbofuran 1/8 LD<sub>50</sub> 0,00625 mg/hari), P3 (ekstrak rumput kebar 3,375 mg + karbofuran 1/4 LD<sub>50</sub> 0,0125 mg/hari), P4 (ekstrak rumput kebar 3,375 mg + karbofuran 1/8 LD<sub>50</sub> 0,00625 mg/hari), P5 (vitamin C 5 mg + karbofuran 1/4 LD<sub>50</sub> 0,0125 mg/hari), P6 (vitamin C 5 mg + karbofuran 1/8 LD<sub>50</sub> 0,00625 mg/hari).

## PEMBAHASAN

Penelitian ini menganalisis perubahan aktivitas reflek motorik dan memori sebagai dampak perubahan

histologi serebellum anak mencit dari induk yang dipapar karbofuran pada masa laktasi. Karbofuran diberikan melalui oral (gavage) pada induk dan pengamatan histologi serebellum dan fungsi otak melalui gerakan reflek motorik dan memori. Dosis karbofuran yang diberikan merupakan dosis rendah yang masih terdeteksi dalam makanan yang berasal dari hewan (daging dan susu) (14) meski bukan merupakan sumber kontak utama bagi sebagian besar individu. Telah dilaporkan bahwa karbofuran dapat menyebabkan defisit serebelar (4). Sel-sel Purkinje dan sel-sel granula serebellum merupakan target paling penting dari zat-zat beracun (15). Sel-sel Purkinje adalah salah satu neuron terbesar di serebellum dan sangat sensitif terhadap racun. Sedangkan sel-sel granula sensitif terhadap hilangnya glutathione intraseluler. Sel-sel Purkinje ditemukan dalam otak tikus pada hari 14-16 pr-natal, sedangkan sel-sel granula muncul pasca-natal. Kedua sel sensitif terhadap bahan kimia eksitotoksik dan berpengaruh pada mekanisme perbaikan DNA (16).

Karbofuran adalah salah satu senyawa yang dapat menginduksi ataksia serebelar dan konsisten dengan temuan dalam penelitian ini. Hasil penelitian ini menunjukkan defisit sel-sel kortikal dan sel-sel intracerebellar oleh paparan karbofuran. Jumlah nekrosis sel neuron penelitian ini meningkat mencapai 41.53% pada dosis terendah dan 59.01% pada dosis tertinggi (Tabel 1). Dibanding dengan masa embrional, jumlah nekrosis sel neuron semakin meningkat mencapai 580.17% pada dosis rendah dan 662.64 % pada dosis tinggi ketika dipapar karbofuran pada puncak neurogenesis (hari ke 14-17 kebuntingan) (5). Sedangkan paparan karbofuran pada puncak masa laktasi (laktasi hari ke 1-4) meningkat mencapai 287.87% (4). Hal ini menunjukkan respon kematian nekrosis sel neuron oleh paparan karbofuran sangat tergantung pada masa kritis perkembangan organ. Nekrosis sel neuron akan semakin tinggi jika terjadi pada fase puncak perkembangan organ (fase kritis) (17). Dalam penelitian ini, paparan karbofuran masa perinatal pada induk mencit dengan dosis 1.25 mg/kg BB, 0.625 mg/kg BB dan 0.3125 mg/kg BB secara signifikan meningkatkan nekrosis. Ini disebabkan karena metabolit karbofuran dapat melintas dalam air susu selama menyusui. Temuan ini sesuai dengan penelitian terdahulu, yang melaporkan efek dari karbofuran pada sistem saraf otonom dapat menembus *blood brain barrier* dan mempengaruhi perkembangan serta pematangan otak (4).

Tujuan lain dari penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi dampak paparan karbofuran pada induk masa laktasi terhadap perilaku anak selama menyusui. Paparan kronis karbofuran pada mencit masa laktasi dapat menyebabkan perubahan perilaku jangka panjang pada anak yang menyusui ditandai dengan penurunan aktivitas reflek motorik dan kapasitas kognitif. Untuk mengetahui efek karbofuran terhadap reflek neuromotor digunakan uji *surface righting reflex*. Karbofuran dapat menurunkan *surface righting reflex* secara signifikan seiring dengan peningkatan dosis (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa paparan karbofuran memiliki efek stimulasi dan aktivitas reflek yang ditentukan oleh dosis yang diberikan. Umumnya uji ini dilakukan pada masa embrionik (paparan pada induk bunting) untuk melihat respon reflek motorik saat anak dilahirkan. Hal ini terkait dengan perkembangan serebrum yang terjadi pada masa embrional (8). Sedangkan fungsi reflek motorik juga ditentukan oleh fungsi serebellum yang pucak perkembangannya terjadi pada akhir kebuntingan hingga awal masa laktasi. Temuan penelitian ini disebabkan juga hilangnya sebagian besar sel-sel glia. Sel-sel ini bertanggung jawab untuk mempertahankan homeostasis, pembentukan mielin dan memberikan dukungan dan perlindungan bagi neuron dalam sistem saraf, termasuk serebellum (18). Oleh karena itu, kehilangan sel glial yang disebabkan oleh karbofuran dapat diikuti oleh kehilangan neuron dan disfungsi yang muncul sebagai defisit dalam kinerja reflek motorik.

Penelitian ini menggunakan metode ketahanan berenang untuk mengetahui efek pada anak mencit yang mendapatkan air susu dari induk yang dipapar karbofuran. Uji metode ketahanan berenang merupakan metode skrining farmakologi yang dilakukan untuk mengetahui efek bahan toksik yang bekerja pada koordinasi gerak, baik pengujian terhadap penurunan maupun peningkatan kontrol saraf pusat. Dari data yang tersaji pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa semua kelompok perlakuan menunjukkan penurunan terhadap kontrol meski kemampuan berenang menurut arah berenang tidak berbeda signifikan pada dosis rendah. Namun hal tersebut tidak dijumpai pada dosis moderat dan dosis tinggi yang sangat berbeda sangat nyata dengan kontrol. Hal ini menandakan bahwa perlakuan tersebut dapat menurunkan ketahanan berenang atau memperpendek terjadinya kelelahan. Aktivitas fisik berlebihan dapat menurunkan secara progresif kemampuan untuk menghasilkan kekuatan otot. Aktivitas dalam sistem saraf dan otot berkontribusi terhadap kelelahan ini. Selain gangguan fungsi sistem motorik, kelelahan dan gangguan homeostasis dapat berkontribusi terhadap penurunan kinerja selama uji. Perubahan yang terjadi pada semua sistem saraf termasuk otak, sumsum tulang belakang, output motorik, input sensorik dan fungsi otonom selama uji (19).

Temuan menarik lainnya adalah paparan karbofuran masa laktasi (perinatal) secara signifikan menurunkan pola pembelajaran dan memori, seperti yang ditunjukkan oleh penurunan waktu latensi untuk mencapai makanan dan waktu yang dihabiskan di lengan makanan. Fungsi memori pada penelitian ini diukur menggunakan *8-Arm Radial Maze* berupa angka kesalahan tikus dalam memasuki lengan *8-Arm Radial Maze* dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji Kruskal dan uji Mann-Whitney menunjukkan penurunan signifikan yang menunjukkan pemberian karbofuran dapat menurunkan fungsi memori mencit. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa karbofuran dapat menyebabkan defisit neurokimia, neurofisiologis dan neurobehavioral. Paparan karbofuran menyebabkan peningkatan ekspresi caspase 3, peningkatan jumlah neuron

degeneratif dan defisit yang sangat besar dalam proses pembelajaran dan memori (20). Metil merkuri merupakan agen sitotoksik yang kuat dan paparan prenatal menghasilkan perubahan kortikal yang luas, dan perubahan serebular yang ditandai oleh berkurangnya mielinisasi, migrasi tertunda dan hilangnya neuron. Perubahan morfologis ini disertai dengan perubahan permanen dalam pembelajaran dan memori (21).

Pengamatan pada *8-Arm Radial Maze* umumnya dilakukan selama 12 hari, akan tetapi pengamatan pada penelitian ini dilakukan selama 5 hari dan sudah terlihat penurunan fungsi memori mencit dan data yang diperoleh dari uji *8-Arm Radial Maze* ini bisa digunakan untuk pengambilan kesimpulan tentang efek karbofuran terhadap fungsi memori mencit. Pencegahan penurunan fungsi memori ini sejalan dengan mekanisme kerja dari karbofuran, maka penggunaan antioksidan sebagai neuroprotektif dan pencegah kematian neuron oleh radikal bebas sangat dianjurkan (22).

Dosis karbofuran yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada fraksi LD<sub>50</sub> sebesar 5 mg yang diberikan pada mencit laktasi ke 0 - 9 sebesar 1.25 mg/kg BB (1/4 LD<sub>50</sub>), 0.625 mg/kg BB (1/8 LD<sub>50</sub>) dan 0.3125 mg/kg BB (1/16 LD<sub>50</sub>). Penggunaan dosis ini tidak berbeda dengan konversi kandungan karbofuran yang ditemukan pada daging sapi sebesar 0.17 mg/kg BB dan air susu sapi sebesar 0.349 mg/kg BB di Blora–Jawa Tengah Indonesia (14). Berdasarkan pemberian dosis terendah pada penelitian ini sebesar 0.3125 mg/kg BB sudah cukup menyebabkan peningkatan jumlah nekrosis sel neuron, menurunkan reflek membalikan badan, menurunkan kemampuan berenang khususnya posisi sudut kepala dan kemampuan memori, maka perlu diwaspadai penggunaan karbofuran pada pertanian dan perkebunan yang dapat memberikan dampak buruk pada terbentuknya residu pada produk makanan asal ternak.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: terjadi peningkatan signifikan nekrosis sel neuron, menurunkan signifikan reflek motorik pada surface righting reflex dan kemampuan berenang pada posisi sudut kepala dan arah berenang serta tes memori eight-arm radial maze. Paparan karbofuran pada induk masa laktasi menyebabkan peningkatan nekrosis sel neuron sehingga dapat menurunkan kemampuan reflek, motorik dan daya memori. Saran dari penelitian ini adalah membuka peluang untuk mengkaji pemberian antioksidan untuk menangkal radikal bebas yang ditimbulkan akibat paparan karbofuran. Dengan berbagai varian antioksidan yang mempunyai mekanisme mencegah terjadinya radikal bebas, memutus rantai rekasi radikal bebas hingga *recovery* kerusakan sel akibat radikal bebas diharapkan dapat meningkatkan *survival rate* sel sehingga penurunan kemampuan reflek, motorik dan daya memori dapat dihindari.

**D. STATUS LUARAN:** Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

Data kematian nekrosis sel neuron dengan pewarnaan HE dan data uji fungsi reflek dan motorik otak (*neurobehavioral test*) anak mencit umur meliputi: menghindari jurang dan geotaksis negatif, berenang, mengangkat badan, anggota belakang dan pengujian memori menggunakan *radial arm maze* ini telah *accepted* di *International Journal of Pharmaceutical Research* (Scopus indexed-Q2) dan akan publish pada bulan Maret 2021. Sedang data yang lain seperti pengukuran sel neuron yang mengekspresikan, P53, Bax, Caspase 8, dan 10 telah diselesaikan dan akan diformat artikel serta akan disubmit di jurnal Scopus indexed Q2.

Adapun data tambahan (bukan luaran tambahan) berupa:

1. Kerusakan jantung anak mencit dari induk mencit yang dipapar karbofuran masa laktasi (degenerasi, nekrosis dan infiltrasi sel radang) telah *accepted* di *International Journal of Pharmaceutical Research* (Scopus indexed-Q2) dan akan publish pada bulan Maret 2021.
2. Potensi ekstrak rumput kebar (*Biophytum petersianum klotzch*) terhadap jumlah folikel ovarium mencit (*mus musculus*) masa laktasi yang terpapar karbofuran sudah disubmit di *Research Journal of Pharmacy and Technology* (Scopus indexed-Q3) dan sedang direview (Minor revision).
3. Kerusakan hepar induk mencit yang dipapar karbofuran masa laktasi (degenerasi, nekrosis dan infiltrasi sel radang) telah diformat dalam bentuk artikel dan telah disubmit ke *The Indian Journal of Animal Sciences* (Scopus indexed-Q3).

**E. PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

Tidak ada

**F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Tidak ada

**G. RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN:** Tuliskan dan uraikan rencana tindak lanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

Rencana penelitian di tahun berikutnya mengamati efek perbaikan/potensi ekstrak rumput kebar (*Biophytum petersianum klotzch*) terhadap jalur kematian autophagy dan pengatur utama plastisitas sinaptik melalui ekspresi IHK: Ekspresi Akt, mTORC1, mTORC2, BDNF dan pengujian memori menggunakan *radial arm maze*.

**H. DAFTAR PUSTAKA:** Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

#### References

1. FAO and WHO. Pesticide residues in food 2018. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Berlin, Germany, 18–27 September 2018
2. Carol J. Burns<sup>1</sup>, Laura J. McIntosh<sup>2</sup>, Pamela J. Mink<sup>3</sup>, Anne M. Jurek<sup>3</sup>, Abby A. Li. Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: review of the epidemiologic and animal studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 16:127–283, 2013. DOI: 10.1080/10937404.2013.783383.
3. Amit Kamboj, Ravi Kiran & Rajat Sandhir. Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats: attenuation by *N*-acetylcysteine. *Exp Brain Res* (2006) 170: 567–575 DOI 10.1007/s00221-005-0241-5
4. Luqman EM, Widjiati, Yustinasari LR. Brain Cells Death on Infant Mice (*Mus musculus*) Caused by Carbofuran Exposure During Lactation Period. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Journal*, 2018; 24(6): 845-852.
5. Luqman EM, Sudiana IK, Darmanto W, Achmad AB, Widjiati. Mouse (*Mus musculus*) Embryonic Cerebral Cortex Cell Death Caused by Carbofuran Insecticide Exposure. *Journal of Veterinary Research*, 2019; 63(3): 413-421.
6. Thiago Fernando Beckhauser, José Francis-Oliveira, and Roberto De Pasquale. Reactive Oxygen Species: Physiological and Physiopathological Effects on Synaptic Plasticity. *J Exp Neurosci*. 2016; 10(Suppl 1): 23–48. doi: 10.4137/JEN.S39887
7. Farah Syed , P. J. John , Inderpal Soni. Neurodevelopmental consequences of gestational and lactational exposure to pyrethroids in rats. *Environ Toxicol*. 2016 Dec;31(12):1761-1770. doi: 10.1002/tox.22178.
8. Andreasen NC , D S O'Leary, S Paradiso, T Cizadlo, S Arndt, G L Watkins, L L Ponto, R D Hichwa. The Cerebellum Plays a Role in Conscious Episodic Memory Retrieval. *Hum Brain Mapp*. 1999;8(4):226-34.
9. WU Bao-jiang, XUE Hong-yan, CHEN Li-ping, DAI Yan-feng, GUO Ji-tong and LI Xi-he. Effect of PMSG/hCG Superovulation on Mouse Embryonic Development. *Journal of Integrative Agriculture* 2013, 12(6): 1066-1072
10. Feather-Schussler DN, Ferguson TS. A Battery of Motor Tests in a Neonatal Mouse Model of Cerebral Palsy. *J Vis Exp*. 2016; (117): 53569. DOI: 10.3791/53569
11. Nova Cristiyanti Nababan, Choirul Muslim dan Aceng Ruyani. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Honje Hutan Etlingera hemisphaerica (Blume) R.M.Sm Terhadap Gejala Parkinsonisme Pada Mencit *Mus musculus* L. (1758) Swiss Webster Yang Telah Disuntik Paraquat. *Prosiding Semirata 2015 bidang MIPA BKS-PTN Barat Universitas Tanjungpura Pontianak* Hal 268 - 283
12. Richter SH, Benjamin Zeuch, Katja Lankisch, Peter Gass, Daniel Durstewitz, Barbara Vollmayr. Where Have I Been? Where Should I Go? Spatial Working Memory on a Radial Arm Maze in a Rat Model of Depression. *PLoS One*. 2013 Apr 22;8(4): e62458. doi: 10.1371/journal.pone.0062458. Print 2013.
13. Christine C E et al. (2010). A Rapid and Reliable Methode of Counting Neurons and Other Cells in Brain Tissue: A Comparison of Flow Cytometry and Manual Counting Methods. *Frontiers in Neuroanatomy* Vol: 4

14. Indraningsih. Effect of Carbamate Insecticide Use on Animal Health and its Products. *Jurnal Wartazoa*, 2008; 18(2): 101-14.
15. Gunasekar P, Li Li, Krishnan Prabhakaran, Vladislav Eybl, Joseph L. Borowitz, Gary E. Isom. Mechanisms of the Apoptotic and Necrotic Actions of Trimethyltin in Cerebellar Granule Cells. *Toxicological Sciences*, Volume 64, Issue 1, November 2001, Pages 83–89, <https://doi.org/10.1093/toxsci/64.1.83>.
16. Fonnum F, Lock EA. Cerebellum as a target for toxic substances. 2000, *Toxicology Letters* 112-113:9-16. DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00246-5
17. Qiao D, Seidler FJ, Padilla S and Slotkin TA. 2002. Developmental Neurotoxicity of Chlorpyrifos: What is Vulnerable Period?. *Environmental Health Perspective* 110 (11) 1097-1103.
18. Manto M, Bower JM, Adriana Bastos Conforto, José M. Delgado-García, Suzete Nascimento Farias da Guarda, Marcus Gerwig, Christophe Habas, Nobuhiro Hagura, Richard B. Ivry, Peter Mariën, Marco Molinari, Eiichi Naito, Dennis A. Nowak, Nordeyn Oulad Ben Taib, Denis Pelisson, Claudia D. Tesche, Caroline Tilkete, and Dagmar Timmann. Consensus Paper: Roles of the Cerebellum in Motor Control—The Diversity of Ideas on Cerebellar Involvement in Movement. *Cerebellum*. 2012 Jun; 11(2): 457–487. doi: 10.1007/s12311-011-0331-9.
19. Taylor JL, Amann M, Jacques Duchateau, Romain Meeusen, and Charles L. Rice Neural Contributions to Muscle Fatigue: From the Brain to the Muscle and Back Again. *Med Sci Sports Exerc*. 2016 Nov; 48(11): 2294–2306. doi: 10.1249/MSS.0000000000000923
20. Mishra D, Shashi Kant Tiwari, Swati Agarwal, Vinod Praveen Sharma, Rajnish Kumar Chaturvedi. Prenatal Carbofuran Exposure Inhibits Hippocampal Neurogenesis and Causes Learning and Memory Deficits in Offspring. *Toxicological Sciences*, 127, Issue 1, 2012, 84–100, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs004>.
21. Annau Z, Cuomo V. Mechanisms of neurotoxicity and their relationship to behavioral changes. *Toxicology*, 49, Issues 2–3, 1988, 219-225
22. Lalkovičová M and Danielisová V. Neuroprotection and antioxidants. *Neural Regen Res*. 2016 Jun; 11(6): 865–874. doi: 10.4103/1673-5374.184447