



Perubahan Histologi Otak Mencit (*Mus musculus*) Akibat Efek Neurotoksik Paparan Subletal Insektisida Organofosfat Klorpirifos

Histopathological Changes in the Brain of Mice (*Mus musculus*) Following Sublethal Exposure to Organophosphate Chlorpyrifos

Irfan Abdullah Rojab¹, Liah Kodariah^{2*}, Siti Nurjanah¹, Rachel Roma Uliana Situmorang¹, Vina Salmanda Junaedi², Indri¹, Fachriza Ali Rochmana²

¹Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali
Jl. Cihanjuang No. 303, Bandung, Jawa Barat 40559, Indonesia

²Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali
Jl. Cihanjuang No. 303, Bandung, Jawa Barat 40559, Indonesia

Email: liahliah72@gmail.com

*Penulis Korespondensi

Abstract

Chlorpyrifos is an organophosphate insecticide that has long been used in Indonesian agriculture because of its strong effect against a wide range of pests. However, chlorpyrifos is known to be neurotoxic by inhibiting acetylcholinesterase (AChE), which leads to the buildup of acetylcholine, increased formation of reactive oxygen species (ROS), and oxidative stress that induce neuronal damage. This study examined histological changes in the brain of mice (*Mus musculus*) following sublethal exposure to organophosphate chlorpyrifos. This study employed a true experimental post-test only control group design, using 27 male mice divided into control, 7-day, and 14-day exposure groups. Chlorpyrifos was given orally at 12 mg/kgBW/day. After treatment, necropsy and brain collection were performed. Histological analysis of the cerebrum, cerebellum, and brainstem using hematoxylin–eosin staining. Data were analyzed descriptively and statistically with One-Way Anova followed by Tukey HSD Post Hoc. Results showed a significant rise in neuronal and glial necrosis ($p=0.000$; $p<0.05$), marked by pyknotic nuclei, cytoplasmic vacuolation, chromatolysis and hypereosinophilic. Tremor and ataxia appeared during exposure with decreased body weight ($p=0.046$), especially in the first week. It can be concluded that sublethal chlorpyrifos exposure causes brain tissue degeneration affecting motor and metabolic functions in mice (*Mus musculus*).

Keywords: Brainstem, Cerebellum, Cerebrum, Chlorpyrifos, Mice (*Mus musculus*)

Abstrak

Klorpirifos merupakan insektisida organofosfat yang banyak digunakan di sektor pertanian Indonesia karena efektivitasnya tinggi terhadap hama, namun bersifat neurotoksik yang bekerja dengan menghambat enzim asetilkolinesterase (AChE) menyebabkan penumpukan asetilkolin, peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan stres oksidatif, akibatnya kematian sel dan berujung pada kerusakan neuron dan sel glial di otak. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perubahan histologi otak mencit (*Mus musculus*) akibat paparan subletal insektisida organofosfat klorpirifos. Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratories post-test only control group* dengan 27 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi kelompok kontrol, paparan 7 hari, dan 14 hari. Klorpirifos dosis 12 mg/kgBB/hari diberikan secara oral. Setelah perlakuan, dilakukan nekropsi dan pengambilan otak mencit. Pengamatan histologi *cerebrum*, *cerebellum*, dan batang otak dilakukan dengan pewarnaan hematoksilin-eosin lalu dianalisis secara deskriptif dan uji *One-Way Anova* serta uji lanjutan *Tukey HSD*. Hasil menunjukkan peningkatan signifikan jumlah neuron dan neuroglia nekrosis ($p=0.000$; $p<0,05$) disertai gambaran inti piknotik, vakuolisasi sitoplasma, kromatolisis dan hipereosinofilik. Gejala tremor dan ataksia tampak nyata dan terdapat penurunan berat badan antar kelompok ($p=0,046$) terutama pada paparan minggu pertama. Simpulannya paparan subletal klorpirifos menimbulkan kerusakan histologi otak yang berdampak terhadap sistem motorik dan status metabolik mencit (*Mus musculus*).

Kata kunci: Batang otak, Otak besar, Otak kecil, Klorpirifos, Mencit (*Mus musculus*)

Disubmit: 24 Oktober 2025; Direvisi: 28 Januari 2026; Diterima: 20 Februari 2026

Pendahuluan

Pestisida merupakan senyawa kimia yang digunakan secara luas di berbagai bidang seperti pertanian, rumah tangga, dan kesehatan, terutama sebagai pengendali hama. Salah satu jenis yang paling umum digunakan adalah organofosfat, termasuk klorpirifos, yang efektif dalam mengendalikan organisme perusak tanaman di sektor pertanian Indonesia (Ridano *et al.*, 2017). Berdasarkan laporan FAO, Indonesia menjadi negara dengan konsumsi insektisida tertinggi di dunia pada tahun 2022, dengan volume mencapai 171 kiloton (FAO, 2022).

Klorpirifos bekerja dengan cara menghambat enzim asetilkolinesterase (AChE), yang menyebabkan penumpukan asetilkolin di sinaps-sinaps saraf. Akumulasi ini mengakibatkan stimulasi berlebihan pada sistem saraf, yang berpotensi menimbulkan gangguan neurologis akut maupun kronis (Adeyinka *et al.*, 2023). Gejala yang ditimbulkan meliputi tremor, gangguan otonom, gangguan kognitif, bahkan kerusakan sel saraf (Lin *et al.*, 2023). Paparan klorpirifos dalam kadar subletal dapat memicu peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang berujung pada stres oksidatif. Stres ini menyebabkan peroksidasi lipid, disfungsi mitokondria, dan aktivasi jalur apoptosis yang menyebabkan kematian sel, termasuk neuron (Liu *et al.*, 2023). Efek tersebut merupakan salah satu mekanisme kerusakan sistemik akibat penghambatan AChE yang berdampak langsung terhadap jaringan saraf (Ramadhan, 2015). Stres oksidatif dihasilkan dari ketidakseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan kapasitas antioksidan tubuh. Ketika ROS meningkat secara drastis, maka akan terjadi kerusakan pada struktur sel seperti membran lipid, protein, dan DNA. Hal ini mengarah pada disfungsi mitokondria dan inisiasi apoptosis, khususnya pada neuron dan sel glial (Liu *et al.*, 2023).

Neuron merupakan unit struktural dan fungsional utama dalam sistem saraf yang bertanggung jawab dalam mengirimkan impuls saraf. Sementara itu, sel glial seperti astrosit, oligodendrosit, dan mikroglia berperan penting dalam mendukung fungsi neuron, menjaga homeostasis, serta merespons cedera dan peradangan (Ramadhan, 2015). Keduanya merupakan indikator penting dalam menilai integritas histologis sistem saraf pusat, termasuk

cerebrum, *cerebellum* dan batang otak yang berperan sebagai pusat pengatur fungsi vital tubuh (Rohmah *et al.*, 2019).

Beberapa studi menunjukkan dampak toksik klorpirifos pada jaringan otak. Tartila (2021) mencatat bahwa paparan jangka panjang klorpirifos mengakibatkan perubahan histopatologis yang signifikan di korteks serebri dan *hippocampus*. Sementara Aboubakr *et al.*, (2021) mengamati adanya degenerasi neuron Purkinje di *cerebellum*, namun analisis dalam penelitian-penelitian tersebut masih terbatas hanya pada beberapa area otak tertentu. Setiap bagian otak memiliki fungsi yang berbeda dan tingkat kerentanan yang berbeda. Sistem saraf pusat terdiri dari berbagai bagian otak yang menjalankan fungsinya melalui jaringan saraf yang dibentuk oleh neuron dan sel glial sebagai seluler utama (Yamaguchi *et al.*, 2016). Penelitian secara menyeluruh dalam menilai dampak paparan subletal klorpirifos terhadap perubahan histologis di berbagai bagian utama sistem saraf pusat pada tingkat neuron dan sel glial masih belum banyak dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perubahan histologis pada *cerebrum*, *cerebellum* dan batang otak mencit (*Mus musculus*) akibat paparan subletal insektisida organofosfat klorpirifos yang bersifat neurotoksik. Pendekatan ini sangat penting karena dosis subletal diduga mampu mempelajari dampak toksik yang bersifat kronis atau subkronis tanpa menyebabkan kematian pada hewan uji. Hal ini relevan dalam merepresentasikan paparan nyata yang dialami manusia, terutama petani atau pekerja yang terpapar insektisida dalam dosis rendah secara berulang. Selain itu, WHO (2024) juga mengingatkan bahwa paparan jangka panjang walaupun dalam dosis rendah tetap berisiko menyebabkan gangguan neurologis serius, termasuk kerusakan jaringan sistem saraf pusat.

Studi ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu histologi dan toksikologi, khususnya dalam memahami efek insektisida organofosfat terhadap sistem saraf pusat seperti perubahan histologis otak besar, otak kecil dan batang otak akibat paparan subletal klorpirifos, dengan penekanan pada kerusakan neuron dan sel glial. Temuan ini diharapkan mampu menjadi pertimbangan dalam pengawasan penggunaan pestisida dan meningkatkan kesadaran terhadap

risiko paparan klorpirifos terhadap kesehatan saraf.

Metode Penelitian

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan *post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2025 di Laboratorium Sitohistoteknologi Institut Kesehatan Rajawali dan Laboratorium Biopath serta fasilitas pemeliharaan hewan uji Farm Kita. Subjek dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) berusia 8-12 minggu dengan berat 20-30 gram. Kriteria inklusi mencakup mencit yang memiliki kondisi sehat, aktif, tidak cacat, dan tidak memiliki luka. Jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus *Federer*, dengan jumlah 27 ekor mencit, yang terbagi kedalam 3 kelompok yaitu kontrol tanpa perlakuan, paparan klorpirifos selama 7 hari, dan paparan klorpirifos selama 14 hari. Pemilihan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya spuit 1 cc dengan sonde oral, mikrotom (Leica), mikroskop (Olympus CX33) dengan kamera, peralatan histoteknik seperti *automated stainer* (Leica ST50200), *base mold* (General Care), *cassete*, *object glass* (Sail Brand), Parafin blok (Thermo Scientific), *Tissue Processor* (Thermo Scientific) dan *Waterbath* (Medite). Sedangkan bahan yang digunakan yaitu Alkohol (70%, 80%, 90%, 96%), *Aquadest*, *Buffer Fosfat*, Entelan, Eosin, Eter, *Hematoxylin*, Klorpirifos (Dursban 200 EC), *Neutral Buffer Formalin* 10%, Pakan Standar, Parafin, Serbuk kayu dan *Xylol*.

Aklimatisasi Hewan Uji

Menurut Jamalia (2022) dan Singh dan Panwar (2014) mencit diaklimatisasikan selama 7 hari yang terbagi menjadi 3 kelompok untuk penyesuaian lingkungan baru. Mencit adalah makhluk sosial, karena itu setiap kandang ditempatkan 3 mencit dengan alas serutan kayu yang diganti setiap 3 hari sekali. Hewan uji diberi akses makan standar dan air *ad libitum* yang dirawat menurut prinsip dan pedoman yang disetujui oleh komite etika Institusi (Nomor : REC-UAD/02/02/09-2025/132). Hewan uji berada di lingkungan dalam kondisi atmosfer yang terkendali, dengan siklus gelap/terang 12:12 jam, suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, dan kelembapan 50-70%.

Perlakuan Hewan Uji

Setelah proses aklimatisasi selama 7 hari, Setiap kelompok diukur berat badan setiap hari sebelum perlakuan. Kelompok kontrol hanya menerima pakan standar dan air minum biasa, sedangkan kelompok perlakuan menerima insektisida klorpirifos secara oral. Diketahui bahwa nilai LD_{50} klorpirifos untuk mencit adalah 60 mg/kg BB secara oral, sehingga dosis yang diberikan sebesar 12 mg/kg BB atau 20% dari LD_{50} ditentukan sebagai dosis subletal (Wolejko et al., 2022). Pendekatan ini sangat penting karena dosis subletal diduga mampu mempelajari dampak toksik yang bersifat kronis atau subkronis tanpa menyebabkan kematian pada hewan uji. Larutan tersebut disiapkan dari stok dan diperbaharui setiap 5 hari. Kelompok perlakuan 7 hari mulai menerima klorpirifos dihari ke-8 hingga hari ke-14, lalu dilakukan nekropsi pada hari ke-15. Sementara itu, kelompok 14 hari diberi klorpirifos hingga hari ke-21 dan nekropsi dilakukan pada hari ke-22. Setiap kelompok diobservasi secara visual selama masa perlakuan untuk menilai aktivitas seperti makan dan minum dengan mengamati sisa pakan atau minum, tremor, dan ataksia.

Tabel 1. Skoring Derajat Kerusakan (Sihombing et al., 2021)

Gambaran Histologis	Skala Sel Nekrosis	Skor
Sel-sel neuron dan neuroglia yang mengalami nekrosis	0	1
	1-10	2
	11-20	3
	>20	4

Pengolahan Preparat Histopatologi

Setelah hewan uji mendapatkan perlakuan, anestesi dilakukan dengan menggunakan eter melalui inhalasi dan dilanjutkan dengan dislokasi servikal. Otak mencit dipisahkan pada larutan buffer fosfat, kemudian *cerebrum*, *cerebellum* dan batang otak difiksasi dengan larutan NBF 10% dalam rasio 1:10 selama 24-48 jam. *Processing* jaringan dilakukan dengan fiksasi dalam NBF 10%, dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, dan 96%, *clearing* dengan *xylol*, impregnasi dan *embedding*, *blocking*, pemotongan jaringan, pewarnaan hematoxilin-eosin, dan pembuatan preparat. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x.

Analisis Data

Penilaian preparat histopatologi dilakukan dengan menghitung jumlah neuron dan neuroglia yang mengalami nekrosis dalam 5 lapang pandang untuk setiap sampel, selanjutnya diberikan skor derajat kerusakan seperti pada Tabel 1.

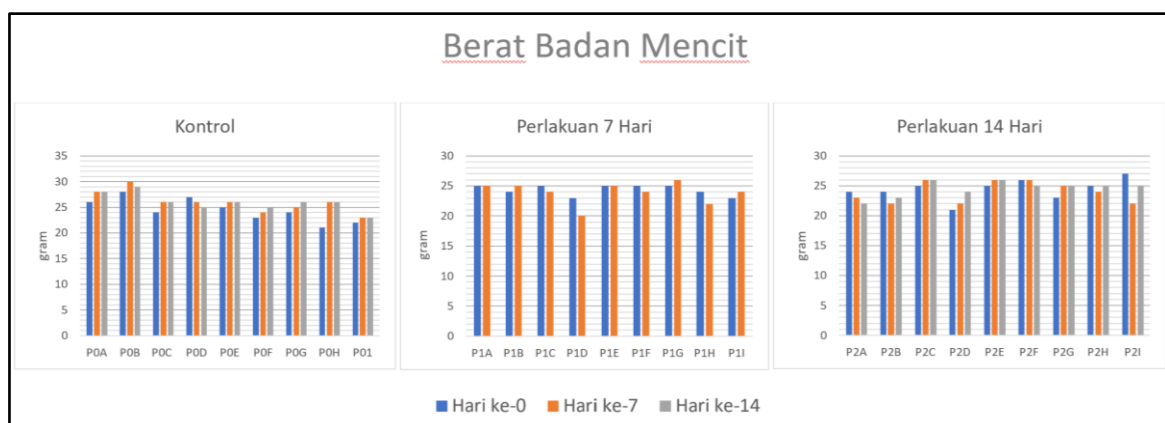
Gambaran histologi dengan skor kerusakan selanjutnya diverifikasi dan divalidasi oleh dokter Patologi Anatomi Laboratorium Biopath. Data yang telah divalidasi kemudian diolah secara deskriptif dan dianalisis statistik menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene's*. Selanjutnya digunakan uji parametrik *One-Way Anova* dengan uji lanjut *Tukey HSD Pos Hoc* untuk melihat perubahan histologi pada otak mencit, Semua analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak *IBM SPSS Statistics* versi 25.0.

Hasil dan Pembahasan

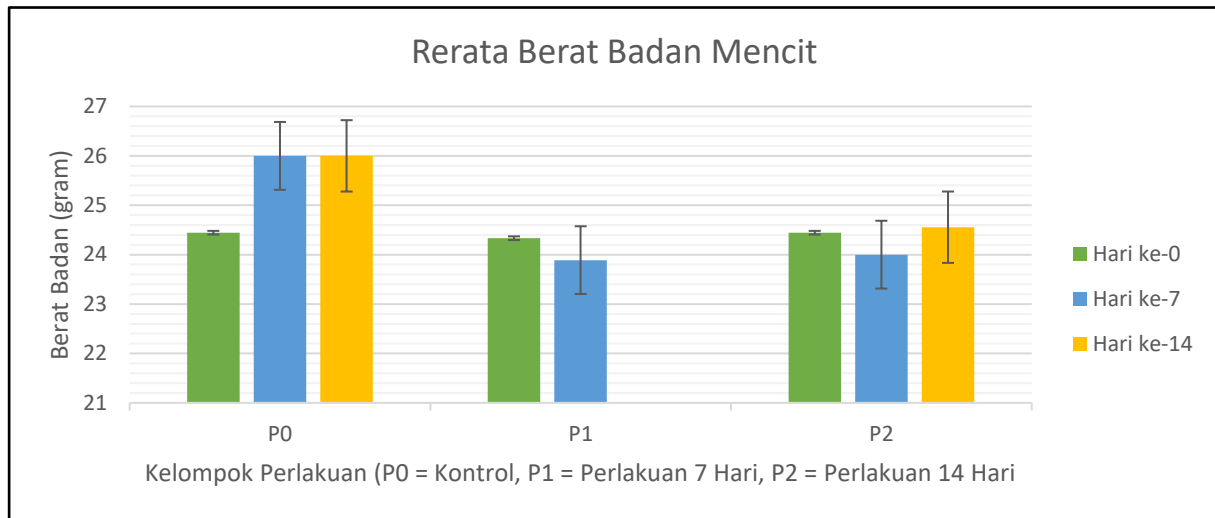
Analisis Berat Badan Mencit (*Mus musculus*)

Pengukuran berat badan mencit dilakukan dengan cara membandingkan berat badan awal sebelum perlakuan dan akhir setelah perlakuan. Hasil perubahan berat badan dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan hasil pengamatan berat badan sebelum dan sesudah paparan, pada kelompok Kontrol (P0) menunjukkan perubahan cenderung mengalami kenaikan berat badan. Kelompok perlakuan 7 hari (P1) menunjukkan rata rata penurunan berat badan, sementara kelompok perlakuan 14 hari (P2) cenderung mengalami kenaikan kembali.

Perubahan berat badan mencit digambarkan dengan grafik seperti pada Gambar 2. Berat badan pada mencit selanjutnya dianalisis menggunakan statistik dengan mengukur berat badan sebelum dan sesudah perlakuan. Uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's Test* menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$ yang berarti data terdistribusi normal dan homogen. Uji parametrik *One-Way Anova* dapat dilanjutkan dan menunjukkan perbedaan signifikan terhadap rata-rata perubahan berat badan antar kelompok dengan nilai signifikansi $p = 0,049$ ($p < 0,05$). Analisis lanjutan pada uji *Tukey HSD post hoc* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok menunjukkan perbedaan signifikan hanya terjadi antara kelompok P0 dan P1 ($p = 0,046$), sementara kelompok P2 tidak berbeda signifikan dengan yang lainnya ($p > 0,05$).



Gambar 1. Pengukuran Berat Badan Mencit



Gambar 2. Grafik perubahan Berat Badan Mencit

Penurunan signifikan terjadi pada kelompok 7 hari jika dibandingkan dengan kontrol, sedangkan kelompok 14 hari tidak berbeda nyata. Pada data observasi, hari ke-3 aktivitas mencit masih normal, namun hari ke-7 terjadi penurunan nafsu makan dengan pakan yang tersisa lebih banyak, sejalan dengan turunnya berat badan pada kelompok tersebut. Kondisi ini menggambarkan adanya stres fisiologis akibat paparan awal klorpirifos. Hal ini sesuai dengan Farkhondeh *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa paparan awal CPF dapat memicu hiperglikemia, dislipidemia, dan penurunan berat badan, bergantung pada dosis dan durasi paparan. Pada kelompok 14 hari, berat badan dihari ke-7 terlihat mengalami penurunan dan meningkat kembali dihari ke-14 meski konsumsi makanan menurun. Hal ini mengindikasikan adanya mekanisme kompensasi metabolik atau efek biologis CPF yang bersifat obesogenik. Studi yang dilakukan oleh Meggs dan Brewer, (2007) dengan menggunakan tikus yang dipaparkan klorpirifos sebesar 5 mg/KgBb secara subkutan selama 4 bulan mengalami peningkatan berat badan pada bulan ke-2, ke-3 dan ke-4 terus semakin meningkat. Peningkatan ini disebabkan oleh terganggunya sistem endokrin yang ditandai dengan peningkatan bantalan lemak peri-nefrik yang signifikan di jaringan adiposa. Hal ini berkaitan dengan kemampuan klorpirifos yang dapat mempercepat proses diferensiasi adiposit imatur menjadi sel lemak matur. Blanco *et al* (2020) juga menjelaskan bahwa CPF dan metabolitnya mampu merangsang diferensiasi

preadiposit menjadi adiposit serta meningkatkan akumulasi lipid melalui aktivasi jalur PPAR γ dan C/EBP α . Aktivasi kedua jalur ini, bersama peningkatan ekspresi adipokin FABP4, memperkuat penyimpanan lemak meski asupan makanan menurun. Dengan demikian, penurunan berat badan pada minggu pertama dapat dijelaskan sebagai fase katabolik akibat stres oksidatif di hipotalamus, sedangkan peningkatan berat badan pada minggu kedua berkaitan dengan sifat obesogenik CPF yang memicu penyimpanan energi lebih besar meski disertai berkurangnya nafsu makan.

Analisis Histopatologi Otak

Pengamatan histopatologi dilakukan dengan mengamati neuron dan neuroglia. Neuron dan neuroglia dapat dibedakan dimana neuron memiliki ukuran sel dan inti yang besar, serta tampak terang karena banyaknya *euchromatin*, neuron juga memiliki sitoplasma yang luas mengandung badan Nissl. Di sisi lain, neuroglia lebih kecil, dengan inti yang lebih kecil, gelap, serta sitoplasma yang lebih tipis (Garcia *et al.*, 2016). Dalam sistem saraf pusat, neuroglia terdiri dari astrosit yang memiliki inti yang relatif terang, oligodendrosit dikenali dengan inti yang kecil, bulat, dan gelap, serta mikroglia yaitu sel terkecil dengan inti sangat padat dan bentuknya tidak teratur (Ludwig & Das, 2023). Dalam kondisi patologis, neuron serta neuroglia dapat mengalami nekrosis, secara histologis ditandai oleh hilangnya substansi Nissl (kromatolisis), peningkatan eosinofilia sitoplasma (hipereosinofilik), serta perubahan

inti sel berupa piknotik hingga kariolisis (Garcia *et al.*, 2016).

1. Otak Besar (*Cerebrum*)

Pengamatan dengan cara mikroskopis bertujuan dalam menilai dan mengidentifikasi histologi otak untuk mengetahui gambaran sel neuron dan neuroglia yang mengalami degenerasi ataupun nekrosis. Hasil pengamatan pada otak besar (*cerebrum*) dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil dari pengamatan histologi memperlihatkan adanya perbedaan yang jelas antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terlihat neuron terdistribusi rata pada jaringan dan memiliki inti yang jelas, sedangkan pada kelompok perlakuan, ditemukan peningkatan jumlah sel neuron yang mengalami nekrosis dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perubahan yang terjadi berupa inti sel yang mengecil dan hilangnya substansi Nissl (kromatolisis). Sedangkan pada sel neuroglia nekrosis terlihat inti piknotik. Hal ini menunjukkan bahwa klorpirifos memiliki efek neurotoksik yang nyata terhadap jaringan otak besar.

2. Otak Kecil (*Cerebellum*)

Hasil histopatologi otak kecil (*Cerebellum*) memperlihatkan adanya perbedaan gambaran jaringan antara kelompok kontrol dan perlakuan paparan CPF 7 hari dan 14 hari. Gambaran histologi Otak kecil dapat dilihat pada Gambar 4.

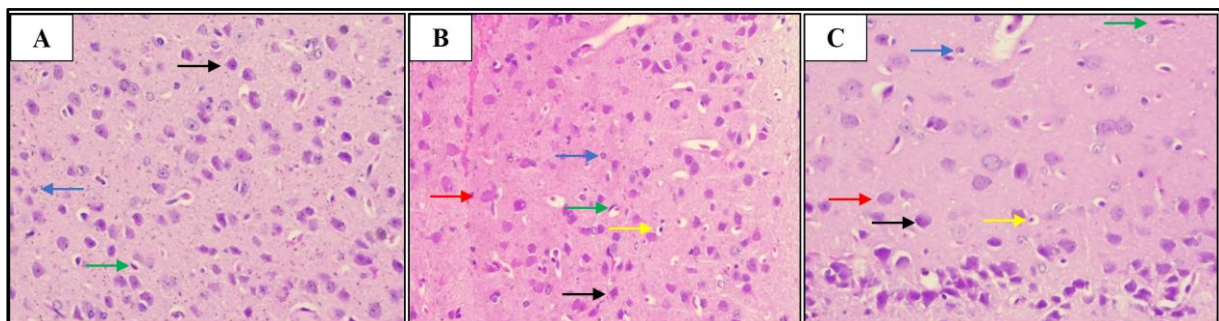
Pada kelompok kontrol, kerusakan masih minimal sitoplasma rata dengan inti yang

jelas. Sebaliknya, pada kelompok perlakuan dengan klorpirifos, gambaran histologis *cerebellum* menunjukkan adanya neuron kromatolisis dengan hilangnya substansi Nissl, sitoplasma hipereosinofilik, inti menyusut, dan degenerasi neuroglia dengan inti piknotik. Perubahan ini degenerasi dan nekrosis menunjukkan kegagalan adaptasi sel saraf terhadap stres toksik.

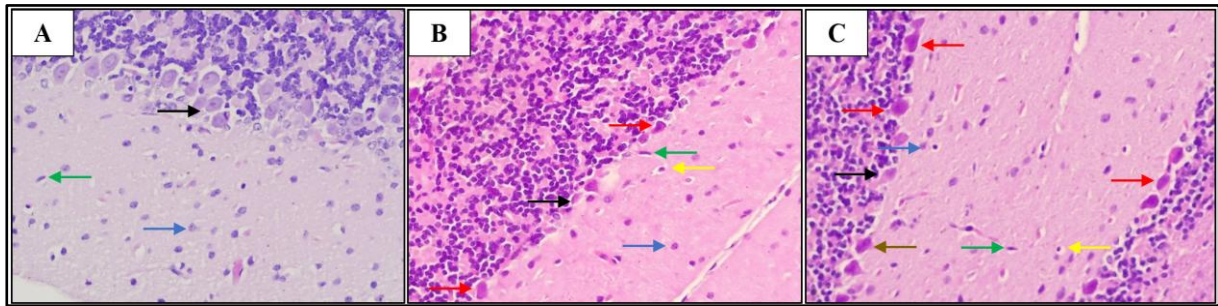
3. Batang Otak (*Truncus cerebri*)

Batang otak berperan penting dalam mengatur fungsi vital seperti pernapasan, denyut jantung, tekanan darah, serta menjadi jalur penghubung utama otak dan sumsum tulang belakang. Kerusakan pada struktur ini dapat menimbulkan gangguan sistemik yang fatal (Lorenzo, 2023). pengamatan histologi batang otak dapat dilihat pada Gambar 5.

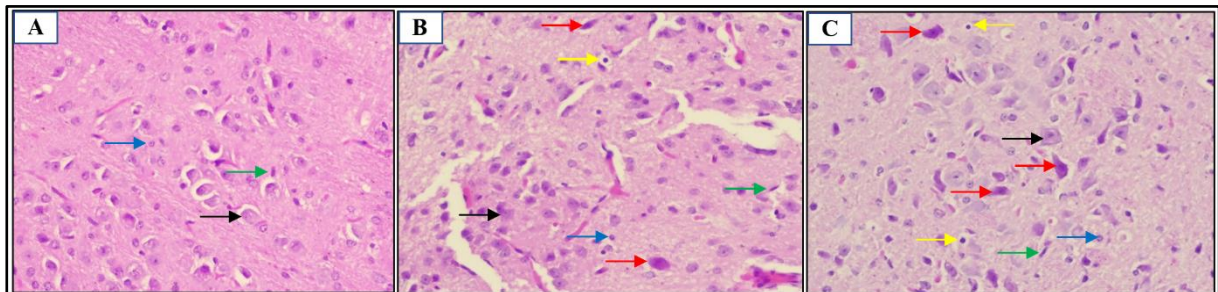
Pada kelompok kontrol, jaringan batang otak terlihat relatif normal, dengan susunan neuron dan sel neuroglia yang utuh. Sel-sel saraf tampak memiliki inti yang jelas, sitoplasma homogen, dan tidak ada tanda-tanda nekrosis. Sebaliknya, pada kelompok perlakuan dengan klorpirifos, tampak ditemukan sel-sel neuron yang mengalami nekrosis ditandai dengan vakuolisasi sitoplasma, dan sitoplasma hipereosinofilik. Pada sel neuroglia terjadi perubahan bentuk dan struktur inti piknotik. Temuan ini menunjukkan adanya efek toksik klorpirifos yang nyata terhadap jaringan batang otak, yang berpotensi mengganggu fungsi vital sistem saraf pusat.



Gambar 3. Pewarnaan H&E pada *Cerebrum* dengan perbesaran 400x. **Keterangan:** Neuron normal (Panah Hitam), Astrosit (Panah Biru), Mikroglia (Panah Hijau), Neuron nekrosis – Kromatolisis (Panah Merah), dan Neuroglia nekrosis – Piknotik (Panah Kuning). (A) P0 (Kontrol) menunjukkan skor kerusakan 1 (0 sel nekrosis). (B) P1 diberi klorpirifos 12 mg/kg BB selama 7 hari menunjukkan skor kerusakan 2 (1-10 sel nekrosis). (C) P2 diberi klorpirifos 12 mg/kg BB selama 14 hari menunjukkan skor kerusakan 2 (1-10 sel nekrosis).



Gambar 4. Pewarnaan H&E pada *Cerebellum* dengan perbesaran 400x. **Keterangan:** Neuron normal (Panah Hitam), Astrosit (Panah Biru), Mikroglia (Panah Hijau), Neuron nekrosis - Hipereosinofilik (Panah Merah), Neuroglia nekrosis - Piknotik (Panah Kuning) dan Neuron piknotik (Panah Coklat). (A) P0 (Kontrol) menunjukkan skor kerusakan 1 (0 sel nekrosis). (B) P1 diberi klorpirifos 12 mg/kg BB selama 7 hari menunjukkan skor kerusakan 2 (1-10 sel nekrosis). (C) P2 diberi klorpirifos 12 mg/kg BB selama 14 hari menunjukkan skor kerusakan 3 (11-20 sel nekrosis).



Gambar 5. Pewarnaan H&E pada Batang Otak dengan perbesaran 400x. **Keterangan:** Neuron normal (Panah Hitam), Astrosit (Panah Biru), Mikroglia (Panah Hijau), Neuron nekrosis - Hipereosinofilik (Panah Merah), dan Neuroglia nekrosis - Piknotik (Panah Kuning). (A) P0 (Kontrol) menunjukkan skor kerusakan 1 (0 sel nekrosis). (B) P1 diberi klorpirifos 12 mg/kg BB selama 7 hari menunjukkan skor kerusakan 2 (1-10 sel nekrosis). (C) P2 diberi klorpirifos 12 mg/kg BB selama 14 hari menunjukkan skor kerusakan 3 (11-20 sel nekrosis).

Analisis Skor Kerusakan Histopatologi Otak

Preparat yang sebelumnya diamati, selanjutnya dilakukan analisis lebih lanjut dengan menghitung jumlah neuron dan neuroglia yang mengalami nekrosis dihitung pada 5 lapang pandang. Jumlah sel nekrosis dapat dilihat seperti Tabel 2, dimana tabel tersebut merupakan jumlah yang dirata-ratakan dengan membagi lima sesuai jumlah lapang pandang, sehingga diperoleh rerata sel nekrosis sebagai berikut pada masing masing sampel dan perlakuan.

Uji lanjutan *Tukey HSD* menunjukkan bahwa pada jaringan *cerebrum*, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok 7 hari dan 14 hari ($p < 0,05$), sedangkan antara 7 hari dan 14 hari tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Namun peningkatan kerusakan tetap terlihat seperti yang

dilaporkan pada skor kerusakan rata-rata *cerebrum* (Tabel 2). Pada *cerebellum* dan batang otak, menunjukkan perbedaan bermakna terjadi antar semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Tartila (2021) menemukan bahwa paparan klorpirifos menimbulkan perubahan signifikan pada struktur otak menciit, terutama di wilayah korteks serebri dan *hippocampus*. Hal ini relevan dengan temuan penelitian ini, karena otak besar (*cerebrum*) mencakup *hippocampus* yang berperan penting dalam fungsi memori. Artinya, kerusakan histologi yang terjadi dapat berkaitan dengan gangguan fungsi kognitif pada hewan yang terpapar klorpirifos. Studi yang dilakukan Aboubakr *et al.*, (2021) juga menunjukkan histopatologi otak kecil mengalami apoptosis dengan sel-sel purkinje yang menyusut dan kariolitik serta hilangnya sel-sel purkinje dengan kromatolisis dan satelitosis.

Tabel 2. Rerata Jumlah Neuron dan Neuroglia Nekrosis

Sampel	Kontrol		Perlakuan 7 Hari		Perlakuan 14 Hari	
	Neuron	Neuroglia	Neuron	Neuroglia	Neuron	Neuroglia
Cerebrum						
A	0	0.4	2.2	3.4	0.8	2.2
B	0.4	0.4	2.4	1.8	1.4	2.6
C	0.2	0	2.6	3.8	1.8	1.4
D	0.4	0.4	2.6	1.8	3.8	3.6
E	0.4	0.2	2.4	3.2	2.8	2
F	0.8	0.4	2.6	1.6	3.2	1.6
G	0.4	0.4	2.2	2	4.4	2.4
H	0	0	3.4	0.8	4	2.8
I	0.2	0.2	3.2	3	4.8	4
Mean	0.31	0.27	2.62	2.38	3.00	2.51
Cerebellum						
A	1	0.8	4.2	0.8	8.8	1.6
B	1	1	4	1.6	9.8	1.6
C	1.2	0.2	3.8	2	9.2	1
D	1.2	0.4	4.2	1.6	8.6	1.2
E	0.4	0.8	4.4	0.8	8.6	1
F	0.8	0.8	4	1	8.8	1.4
G	0.8	1	4.2	1.8	9	1.6
H	1	1	4	1.4	9.4	1.6
I	0.8	1	4.2	1.6	9.6	2
Mean	0.91	0.78	4.11	1.40	9.09	1.44
Batang Otak						
A	0.6	0.2	2.4	0	4.4	0.2
B	1	0.2	2.2	0.6	8	0.6
C	0.8	0.2	5.8	1.2	7.4	2.4
D	1.2	0	4.4	0.8	9.8	1.2
E	0.6	0	8.6	2.2	8.8	1
F	0.4	0	6.2	1.8	9.8	1.6
G	0.2	0	4.6	0.8	18	1.6
H	0.4	0.4	7.4	1.6	13.8	2.2
I	0.2	0	9.2	1.6	14.8	1.4
Mean	0.60	0.11	5.64	1.18	10.53	1.36

Analisis jumlah neuron dan neuroglia nekrosis memperlihatkan kenaikan bermakna, demikian kerusakan neuroglia juga meningkat namun tidak sebesar neuron. Selanjutnya hasil pengamatan sel setiap lapang pandang pada kelompok kontrol (P0), perlakuan 7 hari (P1) dan perlakuan 14 hari (P2) diberi skor kerusakan 1-4, kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan dengan membagi hasil total skor pada lima lapang pandang, sehingga diperoleh skor akhir yang disajikan dalam Tabel 3.

Hasil pengamatan histologi menunjukkan bahwa paparan klorpirifos meningkatkan kerusakan sel pada otak mencit secara signifikan. Rerata skor meningkat seiring waktu lamanya paparan. Setelah di dapatkan

rerata skor selanjutnya skor tersebut dianalisis statistik. Uji *Shapiro Wilk* dan *Levene's* menunjukkan seluruh data terdistribusi normal dan varians yang homogen ($p > 0,05$). Dengan demikian, data memenuhi asumsi untuk dilakukan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil analisis *One Way Anova* memperlihatkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol, 7 hari, dan 14 hari pada jaringan *cerebrum* ($F=32,433$; $p=0,000$), *cerebellum* ($F=67,111$; $p=0,000$), dan batang otak ($F=34,857$; $p=0,000$). Uji *Tukey HSD Post hoc* dilakukan untuk melihat perbedaan antar kelompok. Hasil uji lanjutan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Rerata Skor Kerusakan Histologi Otak Mencit (*Mus musculus*)

Sampel	Cerebrum			Cerebellum			Batang Otak		
	P0	P1	P2	P0	P1	P2	P0	P1	P2
A	1.4	2.2	2	1.6	2	2.8	1.4	1.8	2
B	1.6	2	2	1.8	2	2.6	1.8	2.2	2.2
C	1.2	2.4	2	1.4	2.2	2.6	1.6	2.2	2.6
D	1.4	1.8	2.2	1.6	2	2.4	1.8	2	2.6
E	1.6	2.2	2.2	1.4	1.8	2.8	1.6	2.4	2.8
F	1.6	1.8	2	1.8	1.8	2.4	1.4	2.2	2.6
G	1	1.6	2.4	2	2.2	2.8	1.2	2	3.4
H	1	2	2.4	1.8	2.2	2.6	1.4	2.2	2.8
I	1.2	2.2	2.6	1.8	2	2.6	1.2	2.4	3.2
Mean	1.3	2.0	2.2	1.7	2.0	2.6	1.5	2.2	2.7

Tabel 4. Uji Statistik *Tukey HSD Post Hoc*

Jaringan Otak	Perbandingan Kelompok	Mean Difference	p-value
Cerebrum	Kontrol – 7 Hari	-0.68889	0.000
	Kontrol – 14 Hari	-0.86667	0.000
	7 Hari – 14 Hari	-0.17778	0.280
Cerebellum	Kontrol – 7 Hari	-0.33333	0.001
	Kontrol – 14 Hari	-0.93333	0.000
	7 Hari – 14 Hari	-0.60000	0.000
Batang Otak	Kontrol – 7 Hari	-0.66667	0.000
	Kontrol – 14 Hari	-1.20000	0.000
	7 Hari – 14 Hari	-0.53333	0.003

Pada penelitian ini terjadi peningkatan signifikan nekrosis neuron dan neuroglia pada otak mencit. Hal ini menunjukkan bahwa klorpirifos memiliki efek neurotoksik yang nyata terhadap jaringan otak. Mekanisme utama kerusakan disebabkan oleh hambatan enzim asetilkolinesterase (AChE), yang memicu akumulasi asetilkolin di sinaps saraf, overstimulasi sistem saraf, stres oksidatif, serta akhirnya terjadi kematian sel saraf (Gupta, 2019). Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Eronat dan Sagir, (2020) yang melaporkan yakni adanya degenerasi sel saraf serta perubahan morfologi neuron di *hippocampus* pada hewan uji setelah terpapar klorpirifos.

Pada pengamatan observasi hari ke-11, mencit mulai menunjukkan tremor ringan dan gejala ataksia sesaat setelah pemberian CPF, sedangkan pada hari ke-14 tremor semakin jelas, menandakan adanya gangguan fungsi motorik akibat kerusakan pada otak (Aroniadou-Anderjaska *et al.*, 2023). Batang otak, khususnya pons dan medula oblongata, berperan penting dalam transmisi impuls ke *cerebellum* dan sumsum tulang belakang, sehingga kerusakannya berdampak langsung pada koordinasi motorik (Lorenzo, 2023). Kaur *et al.*, (2019) menemukan bahwa paparan klorpirifos

dosis 13,5 mg/kgBB selama 8 minggu pada tikus menyebabkan penurunan aktivitas AChE dan meningkatkan parameter stres oksidatif, yang secara kolektif menyebabkan gangguan memori dan perilaku. Hasil skoring histologi menunjukkan adanya peningkatan kerusakan yang signifikan dan cukup besar antar kelompok pada *cerebellum* dan batang otak. Gambaran histologi berupa inti sel piknotik, vakuolisasi sitoplasma, kromatolisis dan hipereosinofilik yang menegaskan degenerasi neuron akibat stres oksidatif.

Efek toksik dari CPF tidak hanya terbatas pada jalur kolinergik. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa klorpirifos dapat menyebabkan stres oksidatif dengan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Nitric Oxide* (NO) dalam jumlah yang berlebihan akibat peningkatan kadar kalsium di dalam sel. Penumpukan ROS ini menyebabkan kerusakan pada membran sel melalui proses peroksidasi lipid, serta merusak protein dan DNA, dan mengakibatkan disfungsi mitokondria yang bisa berujung pada kematian sel baik melalui mekanisme apoptosis maupun nekrosis (Liu *et al.*, 2023).

CPF–Oxon menghambat enzim asetilkolinesterase sehingga asetilkolin menumpuk di sinaps. Akumulasi ini memicu

peningkatan masuknya ion kalsium (Ca^{2+}) ke dalam sel, yang kemudian merangsang produksi *Nitric Oxide* (NO) dan memperbanyak pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selain melalui jalur tersebut, kerusakan mitokondria akibat CPF–Oxon juga mengganggu transportasi kalsium, menyebabkan ion Ca^{2+} yang terus terakumulasi dan semakin meningkatkan produksi NO. Kondisi ini mengaktifkan mekanisme eksitotoksitas yang memperburuk stres oksidatif melalui peningkatan ROS dalam neuron (Pearson & Patel, 2016). ROS kemudian memicu peroksidasi lipid pada membran neuron dan merusak mitokondria, yang mempercepat proses kematian sel (Jamalia, 2022). Analisis jumlah neuron nekrosis mendukung teori eksitotoksitas, yaitu kematian neuron akibat stimulasi berlebihan reseptor glutamat, terutama NMDA (Sherif *et al.*, 2025).

Kerusakan juga terjadi pada sel glial, terutama sel oligodendrosit, yang secara morfologis mudah dikenali dengan inti kecil dan padat (Tangkeallo, 2024). Oligodendrosit berfungsi menghasilkan mielin lipid dengan kandungan lipid yang tinggi, sangat rentan terhadap peroksidasi akibat ROS. Sel tersebut merupakan salah satu tipe sel saraf yang paling peka terhadap kerusakan oksidatif setelah terjadinya trauma saraf (Giacci *et al.*, 2018). Aktivitas enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan CA yang rendah dibanding astrosit mempercepat kerusakan saat terjadi ketidakseimbangan redoks. Selain itu, CPF dapat meningkatkan ekspresi IL-1 β dan NLRP3 dalam mikroglia, yang menunjukkan adanya aktivasi inflamasi (Weis *et al.*, 2021). Mikroglia yang diaktifkan ini melepaskan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 yang menyebabkan peningkatan degenerasi saraf (Narwanto *et al.*, 2022). Penelitian Narwanto *et al.* (2022) menunjukkan bahwa mencit yang terpapar klorpirifos dosis subletal selama 28 hari menunjukkan peningkatan signifikan dalam kadar MDA di otak, yang mengindikasikan adanya peroksidasi lipid, serta penurunan aktivitas antioksidan seperti GPx dan katalase. Hal ini memperkuat teori bahwa kerusakan pada jaringan saraf pada otak tidak hanya disebabkan oleh penghambatan AChE, tetapi juga akibat stres oksidatif yang merusak struktur sel.

Kerusakan neuron dan oligodendrosit berdampak pada fungsi vital batang otak yang mengatur pernapasan, detak jantung, dan

koordinasi motorik. Degenerasi neuron dapat memengaruhi substansi nigra dan *red nucleus* di mesensefalon, yang berfungsi dalam pengiriman sinyal dopaminergik dan pengatur motorik (Lorenzo, 2023). Jalur retikulospinal dan traktus sensorimotor pun ikut terganggu akibat hilangnya mielin dan kematian neuron. Hal ini berakibat pada munculnya tremor dan ataksia yang dapat diobservasi pada hari ke-14. Pernyataan ini diperkuat oleh Rohmah *et al* (2019) yang menyatakan kerusakan mielin dan neuron pada sistem saraf memiliki hubungan langsung dengan gangguan koordinasi gerak (Rohmah *et al.*, 2019). Hal ini juga di buktikan oleh studi menurut Aroniadou-Anderjaska *et al.*, (2023), paparan CPF mengakibatkan gangguan pada jalur kolinergik, aktivasi sel glial, dan peradangan saraf yang berkepanjangan, yang secara langsung menyebabkan munculnya gejala tremor, ketidakstabilan motorik, dan inkoordinasi gerak. Dengan demikian, paparan subletal CPF terbukti menyebabkan gejala neurologis progresif, serta kerusakan histologis otak melalui mekanisme kolinergik, stres oksidatif, eksitotoksitas, dan inflamasi.

Simpulan dan Saran

Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan klorpirifos dosis subletal 12 mg/kg BB pada mencit selama 7 dan 14 hari menyebabkan perubahan nyata pada histologi otak mencit (*Mus musculus*) yaitu *cerebrum*, *cerebellum* dan batang otak. Kerusakan terlihat pada neuron dan sel neuroglia yang ditandai dengan inti sel piknotik, vakuolisasi sitoplasma, kromatolisis dan hipereosinofilik. Derajat kerusakan meningkat seiring lamanya paparan, sehingga durasi berperan penting dalam memperparah efek neurotoksik. Mekanisme yang terlibat meliputi jalur kolinergik, eksitotoksik, stres oksidatif, dan inflamasi. Perubahan histologis ini berkaitan langsung dengan gejala klinis yang muncul seperti anoreksia, tremor, dan ataksia pada mencit akibat paparan klorpirifos dosis subletal.

Penggunaan klorpirifos perlu dikendalikan secara lebih ketat, dan dibatasi pada petani karena efeknya yang besar walaupun dalam dosis kecil. Sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk memastikan penggunaan organofosfat masih dapat dianggap aman atau justru dihentikan. Penelitian

berikutnya sebaiknya mencakup eksplorasi peran antioksidan sebagai agen protektif, serta melakukan analisis imunohistokimia dan molekuler guna mengkonfirmasi biomarker apoptosis dan inflamasi pada kerusakan sistem saraf yang dapat menjadi dasar ilmiah bagi kebijakan penggunaan pestisida yang lebih aman bagi kesehatan dan lingkungan.

Daftar Pustaka

- Aboubakr, M., Elshafae, S. M., Abdelhiee, E. Y., Fadl, S. E., Soliman, A., Abdelkader, A., Abdel-Daim, M. M., Bayoumi, K. A., Baty, R. S., Elgendy, E., Elalfy, A., Baoumy, B., Ibrahim, S. F., & Abdeen, A. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory potential of thymoquinone and lycopene mitigate the chlorpyrifos-induced toxic neuropathy. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(9), 940. <https://doi.org/10.3390/PH14090940>
- Adeyinka, A., Muco, E., Regina, A. C., & Pierre, L. (2023). Organophosphates. In *Weapons of Mass Destruction: An Encyclopedia of Worldwide Policy, Technology, and History*. Berghahn Books <https://doi.org/10.2307/j.ctv1850hst.14>
- Aroniadou-Anderjaska, V., Figueiredo, T. H., de Araujo Furtado, M., Pidoplichko, V. I., & Braga, M. F. M. (2023a). Mechanisms of organophosphate toxicity and the role of acetylcholinesterase inhibition. *Toxics*, 11(10), 866. <https://doi.org/10.3390/toxics11100866>
- Aroniadou-Anderjaska, V., Figueiredo, T. H., de Araujo Furtado, M., Pidoplichko, V. I., & Braga, M. F. M. (2023b). Mechanisms of organophosphate toxicity and the role of acetylcholinesterase inhibition. *Toxics*, 11(10), 866. <https://doi.org/10.3390/TOXICS11100866>
- Blanco, J., Guardia-Escote, L., Mulero, M., Basaure, P., Biosca-Brull, J., Cabré, M., Colomina, M. T., Domingo, J. L., & Sánchez, D. J. (2020). Obesogenic effects of chlorpyrifos and its metabolites during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 137, 111171. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2020.111171>
- Eronat, K., & Sagir, D. (2020). Protective effects of curcumin and *Ganoderma lucidum* on hippocampal damage caused by the organophosphate insecticide chlorpyrifos in the developing rat brain: Stereological, histopathological and immunohistochemical study. *Acta Histochemica*, 122(7), 151621. <https://doi.org/10.1016/J.ACTHIS.2020.151621>
- FAO. (2022). *Pesticides Use (agricultural use)*. Faostat. Retrieved from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>
- Farkhondeh, T., Mehrpour, O., Sadeghi, M., Aschner, M., Aramjoo, H., Roshanravan, B., & Samarghandian, S. (2022). A systematic review on the metabolic effects of chlorpyrifos. *Reviews on Environmental Health*, 37(1), 137–151. <https://doi.org/10.1515/REVEH-2020-0150>
- Garcia, C. M., John, Y. J., Barbas, H., & Zikopoulos, B. (2016). Distinction of neurons, glia and endothelial cells in the *cerebral cortex*: an algorithm based on cytological Features. *Frontiers in Neuroanatomy*, 10, 107. <https://doi.org/10.3389/FNANA.2016.00107>
- Giacci, M. K., Bartlett, C. A., Smith, N. M., Iyer, K. S., Toomey, L. M., Jiang, H., Guagliardo, P., Kilburn, M. R., & Fitzgerald, M. (2018). Oligodendroglia are particularly vulnerable to oxidative damage after neurotrauma *In Vivo*. *Journal of Neuroscience*, 38(29), 6491–6504. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1898-17.2018>
- Gupta, R. C. (2019). Biomarkers in Toxicology. In *Biomarkers in Toxicology*. Academic Press <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01788-3>
- Jamalia, S. (2022). *Perubahan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Remaja akibat Paparan Subkronis Klorpirifos, Karbofuran dan Sipermetrin* [Bachelor's Thesis]. Universitas Jember <https://repository.unej.ac.id/xmlui/handle/123456789/108171>
- Kaur, S., Singla, N., & Dhawan, D. K. (2019). Neuro-protective potential of quercetin during chlorpyrifos induced neurotoxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(2), 220–230. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1569022>
- Lin, J. W., Fu, S. C., Liu, J. M., Liu, S. H., Lee, K. I., Fang, K. M., Hsu, R. J., Huang, C. F., Liu, K. M., Chang, K. C., Su, C. C., & Chen, Y. W. (2023). Chlorpyrifos induces neuronal cell death via both oxidative stress and Akt activation downstream-regulated CHOP-triggered apoptotic pathways. *Toxicology in Vitro : An International Journal Published in Association with BIBRA*, 86, 105483. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2022.105483>
- Liu, H., Zhang, X., Shi, P., Yuan, J., Jia, Q., Pi, C.,

- Chen, T., Xiong, L., Chen, J., Tang, J., Yue, R., Liu, Z., Shen, H., Zuo, Y., Wei, Y., & Zhao, L. (2023). Nicotinic acetylcholine receptor: a key receptor in the cholinergic anti-inflammatory pathway exerting an antidepressant effect. *Journal of Neuroinflammation*, 20(1), 84. <https://doi.org/10.1186/S12974-023-02768-Z>
- Lorenzo, C. (2023). *Brainstem: Definition, anatomy, parts, function Kenhub*. KENHUB. Retrieved from <https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/the-brainstem>
- Ludwig, P. E., & Das, J. M. (2023). *Histology, Glial Cells*. StatPearls. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441945/>
- Meggs, W. J., & Brewer, K. L. (2007). Weight gain associated with chronic exposure to chlorpyrifos in rats. *Journal of Medical Toxicology*, 3(3), 89. <https://doi.org/10.1007/BF03160916>
- Narwanto, M. I., Purwandhono, A., Sofiana, K., Febianti, Z., Putri, E. R. M., & Jauhani, M. A. (2022). Neurotoxicity of chlorpyrifos, carbofuran, and cypermethrin in adolescent rats' brain. *Majalah Kedokteran Bandung*, 54(4), 202–207. <https://doi.org/10.15395/mkb.v54n4.2749>
- Pearson, J. N., & Patel, M. (2016). The role of oxidative stress in organophosphate and nerve agent toxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1378(1), 17–24. <https://doi.org/10.1111/NYAS.13115>
- Ramadhan, L. (2015). *Pengaruh Pemberian Curcumin Atau Vitamin C Terhadap Perubahan Histopatologi Jantung Neonatus Mencit (Mus Musculus) Yang Dipapar Insektisida Karbofuran Pada Induk Mencit Periode Laktasi* [Bachelor's Thesis]. Universitas Airlangga.
- Ridano, M. E., Racca, A. C., Flores-Martin, J. B., Fretes, R., Bandeira, C. L., Reyna, L., Bevilacqua, E., Genti-Raimondi, S., & Panzetta-Dutari, G. M. (2017). Impact of chlorpyrifos on human villous trophoblasts and chorionic villi. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 329, 26–39. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2017.05.026>
- Rohmah, W., Ghaisani, U. M., & Mayasari, D. (2019). Efek paparan kronik pestisida organofosfat terhadap sistem saraf pusat the effect of chronic exposure of organophosphate pesticide on central nerve System. *J Agromedicine*, 6(2), 388–393.
- Sherif, M. A., Carter, W. G., & Mellor, I. R. (2025). Chlorpyrifos acts as a positive modulator and an agonist of n-methyl-d-aspartate (NMDA) receptors: a novel mechanism of chlorpyrifos-induced neurotoxicity. *Journal of Xenobiotics* 2025, 15(1), 12. <https://doi.org/10.3390/JOX15010012>
- Sihombing, G. Y., Sasputra, I. N., & Hutasoit, R. (2021). Hubungan inhalasi lem jenis perekat karet kloroprena terhadap gambaran histopatologi korteks serebrum tikus putih sprague dawley. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(2), 272–280. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i2.5980>
- Singh, V., & Panwar, R. (2014). *In vivo* antioxidative and neuroprotective effect of 4-Allyl-2-methoxyphenol against chlorpyrifos-induced neurotoxicity in rat brain. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 388(1–2), 61–74. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1899-9>
- Tangkeallo, E. M. (2024). *Pengaruh Pemberian Konsentrat Buah Tomat (Solanum lycopersicum.L) Terhadap Histopatologi Otak Mencit (Mus musculus) yang diberikan Siklosporin* [Bachelor's Thesis]. Universitas Hasanudin
- Tartila, J. (2021). *Tinjauan Naratif Dampak Paparan Kronis Pestisida Organofosfat Terhadap Insidensi Tumor Otak Primer Pada Petani*. [Bachelor's Thesis]. Universitas Jember <https://repository.unej.ac.id/xmlui/handle/123456789/105849>
- Weis, G. C. C., Assmann, C. E., Mostardeiro, V. B., Alves, A. de O., da Rosa, J. R., Pillat, M. M., de Andrade, C. M., Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M. M., da Cruz, I. B. M., & Costabeber, I. H. (2021). Chlorpyrifos pesticide promotes oxidative stress and increases inflammatory states in BV-2 microglial cells: A role in neuroinflammation. *Chemosphere*, 278, 130417. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.130417>
- WHO. (2024). *Preventing suicide by phasing out highly hazardous pesticides*. World Health Organization. Retrieved From <https://www.who.int/publications/m/item/preventing-suicide-by-phasing-out-highly-hazardous-pesticides>
- Wolejko, E., Lozowicka, B., Jablonska-Trypuc, A., Pietruszynska, M., & Wydro, U. (2022). Chlorpyrifos occurrence and toxicological risk assessment: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(19), 12209. <https://doi.org/10.3390/ijerph191912209>

Yamaguchi, M., Seki, T., Imayoshi, I., Tamamaki, N., Hayashi, Y., Tatebayashi, Y., & Hitoshi, S. (2016). Neural stem cells and neuro/gliogenesis in the central nervous system: understanding the structural and functional plasticity of the developing, mature, and diseased brain. *The Journal of Physiological Sciences*, 66(3), 197–206. <https://doi.org/10.1007/S12576-015-0421-4>