



Efektivitas Ekstrak Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) dalam Meningkatkan Perilaku Neurokognitif pada Mencit yang Diinduksi Trimetiltin

(The effectiveness of water lily seed extract (*Nymphaea pubescens* Willd) in improving neurocognitive behavior in mice trimethyltin induced)

Dinda Fadhilah Belahusna, Resti Rahayu, & Putra Santoso*

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh, Padang, Indonesia

ABSTRACT: Neurodegeneration is a disease that results in progressive degeneration and death of nerve cells in the brain. This study aims to reveal the neuroprotective water lily seed extract (*Nymphaea pubescens* Willd) through neurocognitive behavior. Twenty-five male mice were randomly divided into five groups: negative control (Na-CMC 0.5%), positive control induced by trimethyltin (TMT) 0.6 mg/kgBW, and water lily seed extract (100, 200, and 400 mg/kgBW). Induction of brain degeneration with TMT using a single dose intraperitoneally. The extract was given three days after TMT injection orally continuously for 28 days. At the end of the treatment, neurobehavioral tests were carried out including memory intelligence tests with the *Hebb-Williams Maze*, curiosity tests with the *Hole-Board*, and social interaction tests. Furthermore, the measurement of the index of brain organs was carried out. Data were analyzed statistically with One-Way Anova followed by the DNMRT ($P < 0.05$). The results showed that water lily seed extract at doses of 200 and 400 mg/kgBW could significantly improve cognitive intelligence (memory, curiosity, and social interaction) in mice induced by TMT, but had no significant effect on the brain weight index. The findings of this study reveal that water lily seeds are strong candidates for sources of anti-neurodegenerative drugs.

Keywords: water lily; hebb-williams maze; *Nymphaea pubescens*; trimethyltin; cognitive impairment.

ABSTRAK: Neurodegenerasi adalah penyakit yang mengakibatkan degenerasi progresif dan kematian sel saraf di otak. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap khasiat neuroprotektif ekstrak biji teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) melalui analisis perilaku neurokognitif. Sebanyak 25 ekor mencit jantan dibagi secara acak menjadi 5 perlakuan: kontrol negatif (Na-CMC 0,5%), kontrol positif diinduksi trimetiltin (TMT) 0,6 mg/kgBB, dan pemberian ekstrak biji teratai (100, 200, dan 400 mg/kgBB). Induksi degenerasi otak dengan TMT menggunakan dosis tunggal secara intraperitoneal. Ekstrak diberikan tiga hari pasca injeksi TMT secara oral setiap hari selama 28 hari. Pada akhir perlakuan, tes neurobehavioral dilakukan meliputi uji kecerdasan memori dengan *Hebb-Williams Maze*, uji keingintahuan dengan *Hole-Board* dan uji interaksi sosial. Selanjutnya dilakukan pengukuran indeks organ otak. Data dianalisis secara statistik dengan One Way Anova dilanjutkan dengan uji DNMRT ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji teratai dosis 200 dan 400 mg/kgBB secara signifikan dapat meningkatkan kecerdasan kognitif (memori, keingintahuan dan interaksi sosial) pada mencit yang diinduksi TMT, namun tidak berpengaruh signifikan terhadap indeks bobot otak. Temuan penelitian ini mengungkapkan bahwa biji teratai adalah kandidat kuat untuk sumber obat anti-neurodegeneratif.

Kata kunci: biji teratai; hebb-williams maze; *Nymphaea pubescens*; trimetiltin; gangguan kognitif.

Pendahuluan

Neurodegenerasi adalah penurunan fungsi otak dengan hilangnya sel saraf secara perlahan dan progresif di area tertentu di otak dan merupakan patologi utama dari berbagai penyakit neurodegeneratif seperti demensia-Alzheimer (AD), penyakit Parkinson (PD) dan penyakit Huntington (HD) [1]. Gangguan neurodegeneratif dapat diakibatkan karena penuaan otak secara normal dan kejadian molekuler seperti stres oksidatif, gangguan fungsi mitokondria, deposisi protein agregat, peradangan

saraf, dan aktivasi faktor apoptosis [2]. Otak merupakan organ yang paling rentan terhadap stres oksidatif karena konsumsi oksigen yang tinggi. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan yang memicu degenerasi neuron otak. Akumulasi ROS bersama dengan mekanisme pertahanan antioksidan yang rendah menurunkan aktivitas sinaptik saraf dan transmisi saraf, yang menyebabkan gangguan

Article history

Received: 15 Nov 2022

Accepted: 13 Des 2022

Published: 30 Des 2022

Access this article



*Corresponding Author: Putra Santoso

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh, Padang, Indonesia 25175 | Email: putrasantoso@sci.unand.ac.id

kognitif [3].

Paparan Trimethyltin (TMT) telah diketahui menyebabkan degenerasi selektif pada sistem saraf pusat yang menyebabkan kematian neuron selektif, terutama di hipokampus. Hippocampus adalah bagian otak yang terlibat dalam pemrosesan memori [4]. Toksisitas TMT pada hewan uji telah banyak digunakan untuk menghasilkan model gangguan neurodegeneratif seperti demensia Alzheimer. Hewan yang terpapar TMT mengalami perubahan perilaku (hiperaktivitas dan agresi), gangguan kognitif (kehilangan memori dan gangguan belajar) dan kejang sponta [5]. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa histopatologi otak mencit model Alzheimer yang diinduksi TMT terlihat mengalami degenerasi dan nekrosis sel saraf pada fasia dentata dan hipokampus. Neuron nekrotik tampak mengecil dengan inti piknotik dan sitoplasma eosinofilik [6].

Penyediaan pengobatan pada gangguan neurobehavioral seperti Alzheimer saat ini masih menggunakan obat sintesis dengan mekanisme penghambat asetilkolinesterase (AChE) dan reseptor antagonis N-metil-D-aspartat (NMDA), hormon estrogen, dan anti-inflamasi. Obat ini menimbulkan efek samping berupa diare, muntah, gangguan gastrointestinal, gangguan fungsi hati, insomnia, keram, nausea dan fatigue, selain itu obat-obatan ini juga relatif mahal [7].

Ketertarikan pada berbagai antioksidan untuk mengurangi stres oksidatif telah meningkat. Antioksidan ini diketahui mengatur reaksi redoks di neuron dengan menghilangkan radikal bebas ROS dan mengurangi stres oksidatif. Senyawa antioksidan yang berasal dari tanaman dapat memberikan efek neuroprotektif pada otak akibat stres oksidatif yang menyebabkan penurunan daya ingat [8].

Senyawa antioksidan yang berasal dari tumbuhan dapat memiliki efek neuroprotektif pada otak akibat stres oksidatif yang menyebabkan hilangnya daya ingat. Biji teratai mengandung asam oleanolat [9] yang memiliki sifat anti-oksidatif, anti-inflamasi dan antikanker yang berpotensi sebagai neuroprotektif [10]. Asam oleanolat berperan sebagai anti inflamasi yang dapat menurunkan tingkat ekspresi TNF- α , IL-1 β dan IL-6 pada sel BV2 [11]. Selain itu, senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan yang dapat meningkatkan vaskularisasi perifer dan juga meningkatkan aliran darah serebral dalam mencegah neurodegenerasi [12]. Dalam penelitian ini, kami mengembangkan model penyakit neurodegeneratif menggunakan TMT sebagai agen neurotoksik untuk menginduksi penyakit neurodegeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek neuroprotektif ekstrak

biji *N. pubescens* terhadap gangguan kognitif mencit yang merupakan salah satu upaya untuk menggali potensi bahan obat alami.

Metode Penelitian

Bahan Penelitian

Biji teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) diambil dari Amuntai, Banjarmasin, Kalimantan Selatan dan diidentifikasi di Herbarium ANDA, Universitas Andalas; mencit (*Mus musculus*) jantan; pakan RatBio Citra Ina Feedmill Jakarta); etanol 70% (Indo Acidatama, Indonesia); larutan TMT (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO); NaCl 0,9% (E. Merck); Na-CMC 0,5% (China); dan Aquadest.

Ekstraksi Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd)

Biji teratai segar sebanyak 2 kg dicuci bersih, dikeringkan dan dikupas kulit luarnya. Simplisia biji teratai yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan grinder hingga menjadi bubuk. Sebanyak 1000 g simplisia dimasukkan ke dalam tabung elenmeyer. Setelah itu dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (Merck, Darmstadt, Germany) sebanyak 2 Liter selama 2x24 jam dengan pengadukan setiap hari. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring whatman no. 41 hingga didapatkan filtrat. Filtrat kemudian dilakukan evaporasi menggunakan rotary evaporator (Heidolph, Schwabach, Germany) suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak etanol biji teratai [12]. Rendemen yang diperoleh dihitung persentase bobot (b/b) berdasarkan standar Farmakope Herbal Indonesia, dengan menggunakan persamaan berikut [13].

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia kering}} \times 100 \%$$

Pembuatan Larutan TMT (*Trimethyltin chloride*)

Larutan TMT (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO) dibuat dengan dosis 0,6 mg/kgBB dilarutkan dalam NaCl 0,9% dan diberikan sesuai berat badan untuk masing-masing hewan uji. TMT diberikan satu kali dengan injeksi intraperitoneal untuk menginduksi kerusakan otak dan gangguan kognitif pada hewan uji mencit [14].

Perlakuan pada Hewan Percobaan

Protokol penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran UNAND (No.528/UN.16.2/KEP-FK/2021). Hewan uji mencit putih jantan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan masing-masing 5 ekor dengan 5 kali ulangan. Sebelum perlakuan mencit

diaklimatisasi selama 1 minggu dalam lingkungan konstan (12/12 jam cahaya-gelap) diberi makan ratbio dan minum *ad libitum*. Mencit secara acak dibagi menjadi lima kelompok (n=5 per kelompok). Kelompok kontrol P0 diinduksi *sodium-carboxymethyl cellulose* (Na-CMC 0,5%), kelompok P1 yang diinduksi TMT 0,6 mg/kgBB, kelompok P2, P3 dan P4 yang diinduksi TMT + ekstrak biji teratai dosis masing-masing 100, 200 dan 400 mg/kgBB secara oral dengan sonde metode gavage. Pemberian ekstrak biji teratai pada hari ke-3 setelah injeksi TMT sampai hari ke-28, pemberian dengan melarutkan ekstrak dalam Na-CMC 0,5% untuk masing-masing mencit sebanyak 0,5 ml/ekor/hari.

Uji Hebb Williams Maze

Tes kecerdasan memori dilakukan dengan menggunakan metode *Hebb Williams Maze Test* di kotak labirin. Sebelum pengujian, hewan uji dilatih selama 3 hari dengan durasi perhari 1 jam. Parameter yang diamati adalah waktu yang dibutuhkan hewan uji untuk menempuh lintasan dari pintu masuk sampai keluar. Pengujian dilakukan pada saat hewan uji mulai aktif yaitu pada sore hari pukul 16.30. Pengujian mengacu pada penelitian sebelumnya [15].

Uji Hole-Board

Uji rasa ingin tahu dilakukan dengan *Hole-Board Test*

dimana hewan uji ditempatkan dalam kotak berukuran 40 x 40 cm yang memiliki 16 lubang dengan pola yang sama. Parameter yang diukur adalah frekuensi mencit memasukkan kepalanya ke dalam lubang selama 5 menit [16].

Uji Interaksi Sosial

Sebelum pengujian, hewan uji diisolasi secara visual. Selanjutnya individu lain dimasukkan dalam kotak hewan uji. Pengujian dilakukan selama lima menit dan diamati waktu latency (dihitung dari individu baru masuk sampai interaksi pertama terjadi) dan durasi interaksi [17].

Indeks Organ Otak

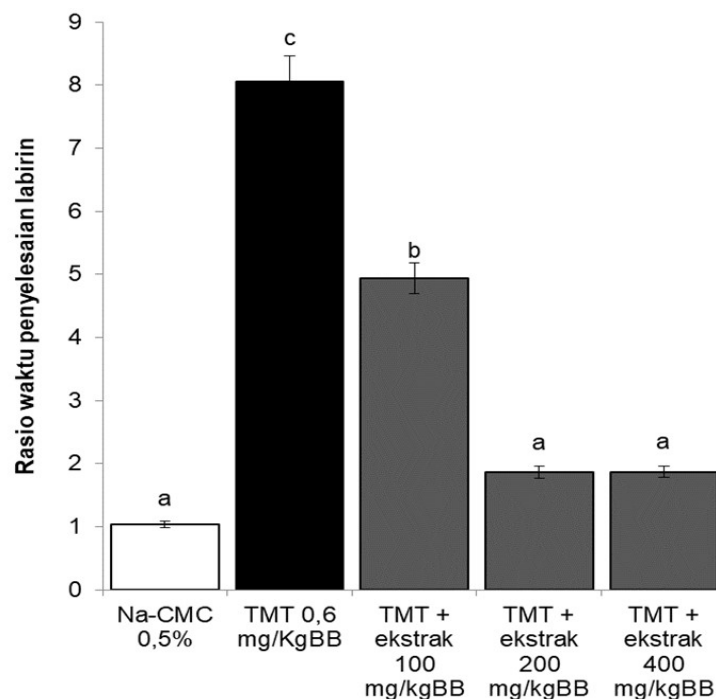
Setelah pengujian mencit dikorbankan dan diambil organ otaknya untuk di observasi morfologi dan indeks organ otak menggunakan rumus berikut [18].

Indeks Organ Otak (%) =

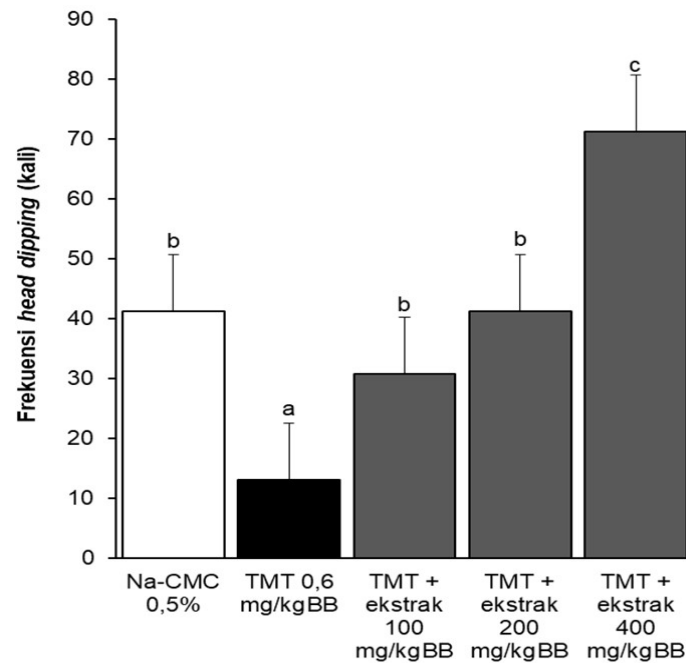
$$\frac{\text{Berat Organ (gram)}}{\text{Berat Badan Hewan Uji (gram)}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS For Windows versi 25. Uji normalitas data menggunakan *Uji Kolmogorov-Smirnov*. Data berdistribusi normal dianalisis



Gambar 1. Hasil pengukuran rasio waktu penyelesaian tes *Hebb-Williams Maze*. Semua data disajikan sebagai nilai rasio \pm SE untuk n=5 ($p < 0,05$).



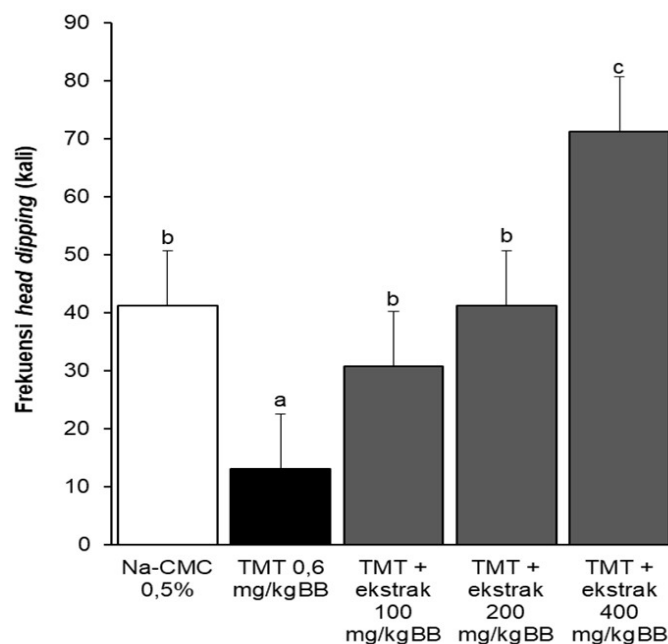
Gambar 2. Hasil pengukuran Frekuensi head dipping pada *Hole Board Test*. Semua data disajikan sebagai nilai rata-rata \pm SE untuk $n=5$ ($p<0,05$).

menggunakan One Way Anova dan jika terdapat perbedaan yang signifikan ($P<0,05$), dilakukan uji lanjut *Duncan's new multiple range test*.

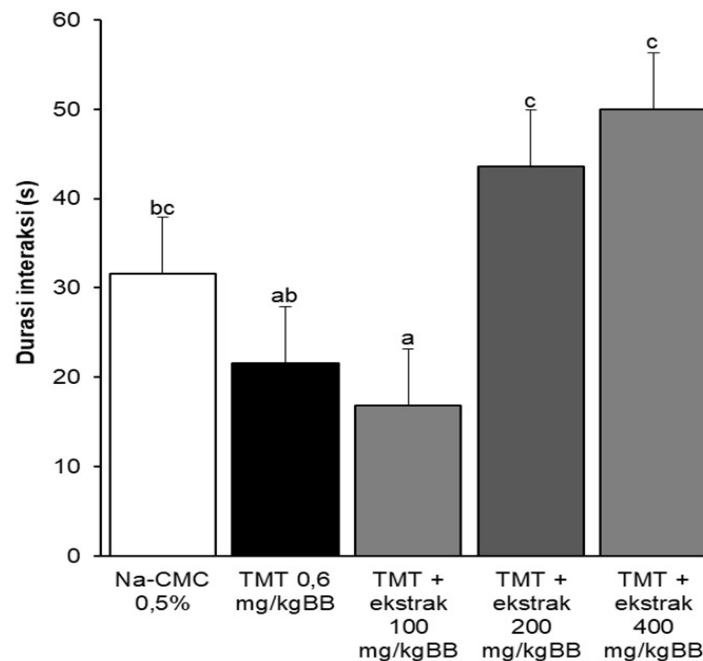
Hasil dan Diskusi

Hasil maserasi simplisia biji teratai dengan pelarut etanol 70% diperoleh ekstrak kental sebanyak 96,54 g

dengan rendemen sebesar 9,65%. Nilai rendemen ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia yang menyatakan rendemen ekstrak biji teratai tidak kurang dari 8,3%. Penelitian terdahulu oleh Wahyuni *et al.*, [19] telah dilakukan pemeriksaan karakterisasi simplisia biji teratai diperoleh kadar abu total (3,83%), kadar abu tidak larut asam (2,90%), kadar abu larut air (0,80%), susut



Gambar 3. Hasil pengukuran waktu latensi pada tes interaksi sosial. Semua data disajikan sebagai nilai rata-rata \pm SE untuk $n=5$ ($p<0,05$).



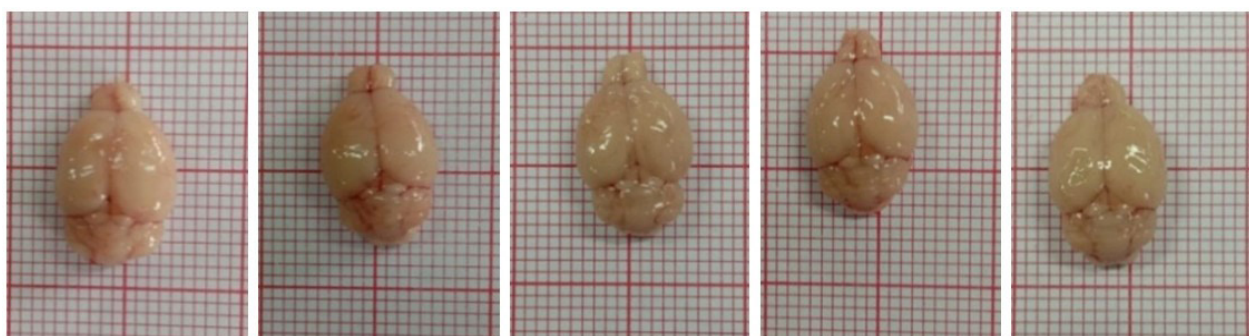
Gambar 4. Hasil pengukuran durasi interaksi pada tes interaksi sosial. Semua data disajikan sebagai nilai rata-rata \pm SE untuk $n=5$ ($p<0,05$).

pengeringan (9,42%), kadar sari larut etanol (3,86%), kadar sari larut air (20,48%), dan kadar air (9,99%). Selain itu hasil skrining fitokimia pada penelitian sebelumnya menunjukkan adanya senyawa alkaloid, fenolat, tanin, flavonoid, monoterpen & seskuiterpen, steroid & triterpenoid, kuinon, serta saponin [20]. Berdasarkan hal tersebut secara keseluruhan dapat dinyatakan bahwa ekstrak biji teratai memenuhi persyaratan yang berlaku di Farmakope Herbal Indonesia [13].

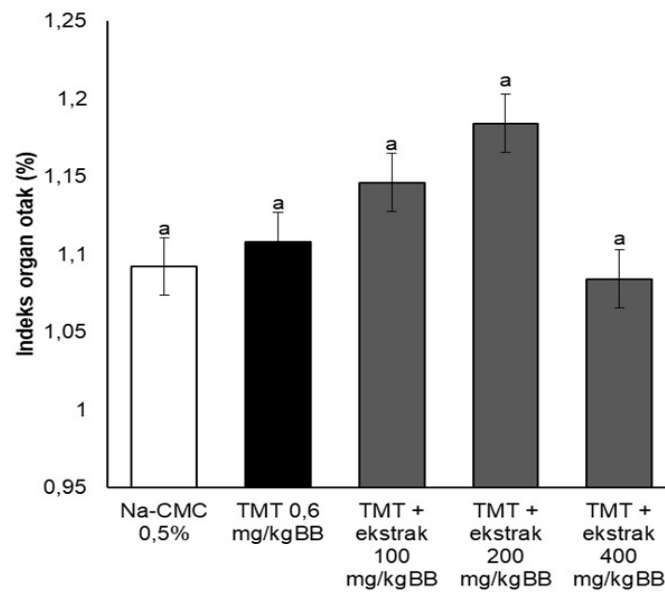
Hebb-Williams Maze digunakan untuk menguji memori kerja spasial, kemampuan belajar dan mengingat jalan pada mencit melalui labirin. Kelompok P1 (TMT 0,6 mg/kgBB) menunjukkan rasio waktu penyelesaian labirin terlama secara signifikan dibandingkan kelompok

P0 (Na-CMC 0,5%) yang menunjukkan pemberian TMT 0,6 mg/kgBB dapat menurunkan fungsi memori mencit (Gambar 1). Defisit memori dipengaruhi peningkatan enzim asetilkolin esterase pada mencit yang diinduksi dengan TMT. Asetilkolin esterase bertanggungjawab degradasi asetilkolin, yang mempertahankan pembelajaran dan fungsi memori [21]. Pada uji labirin, rasio waktu penyelesaian labirin tercepat secara signifikan terlihat pada mencit yang diberi ekstrak dosis 200 dan 400 mg/kgBB, yang menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak biji teratai tidak hanya menekan efek stres, tetapi juga meningkatkan kemampuan belajar dan memori kerja spasial pada mencit.

Pengaruh ekstrak biji *N. pubescens* pada pembelajaran dan memori dikaitkan dengan beberapa sifat antioksidannya.



Gambar 5. Morfologi organ otak mencit. Keterangan: P0 (Na-CMC 0,5%), P1 (TMT 0,6 mg/kgBB), P2 (TMT + Ekstrak 100 mg/kgBB), P3 (TMT + Ekstrak 200 mg/kgBB), dan P4 (TMT + Ekstrak 400 mg/kgBB) ($n=5$).



Gambar 6. Indeks berat otak *M. musculus* L. setelah perlakuan selama 28 hari ($p < 0,05$) ($n = 5$).

Penelitian sebelumnya menemukan bahwa hasil uji GC-MS pada minyak biji *N. pubescens* menunjukkan adanya senyawa antioksidan, yaitu asam oleat dalam proporsi tertinggi [22]. Asam oleat dapat melemahkan respons inflamasi mikroglial yang mendorong kematian neuron, memberikan perlindungan saraf dan meningkatkan fungsi neurologis pada model hewan iskemia otak [23].

Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa injeksi TMT menyebabkan penurunan frekuensi *head dipping* yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol (mencit sehat). Selanjutnya, pemberian ekstrak biji teratai dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB dapat meningkatkan rasa ingin tahu pada mencit yang diinduksi TMT. Semakin tinggi frekuensi *head dipping*, semakin tinggi pula keingintahuan dan eksplorasi mencit. Peningkatan memori oleh ekstrak *N. pubescens* disebabkan adanya antioksidan seperti flavonoid. Banyak flavonoid telah dilaporkan ditemukan sebagai ligan untuk reseptor GABA-A di sistem saraf pusat [24]. Hal ini sejalan dengan mekanisme flavonoid dengan menghambat aktivasi protein kinase dan kaskade sinyal lipid kinase yang menyebabkan penghambatan kerusakan sel saraf dengan perubahan ekspresi gen dan aktivasi kaspase. Flavonoid dapat menghambat ekspresi iNOS dan COX-2, produksi NO, dan pembentukan ROS [25].

Uji sosialisasi dapat menggambarkan kemauan dan motivasi mencit dalam berinteraksi sosial khususnya dengan mencit asing. Dari Gambar 3 dan Gambar 4 diketahui bahwa kelompok P1 (TMT 0,6 mg/kgBB) memiliki perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok

P0 (Na-CMC 0,5%) yang menunjukkan pemberian TMT dapat menyebabkan defisit dalam sosialisasi dan menurunkan motivasi berinteraksi dengan mencit asing. Kelompok P2 dan P4 dengan dosis 200 dan 400 mg/kgBB memiliki perbedaan signifikan dibandingkan dengan P1 yang menunjukkan ekstrak biji teratai dapat memicu keinginan untuk berinteraksi terutama dengan mencit asing. Flavonoid dalam biji teratai berpotensi menghambat neurodegenerasi dan meningkatkan fungsi otak. Flavonoid dapat melindungi neuron terhadap stres oksidatif dan cedera saraf melalui potensi antioksidannya, kemampuan menekan peradangan saraf, dan potensi memodulasi jalur pensinyalan sel [26].

Berdasarkan Gambar 5 dan Gambar 6 dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan morfologi dan indeks organ otak yang bermakna pada masing-masing kelompok perlakuan. Menurut penelitian sebelumnya bahwa otak *M. musculus* setelah injeksi TMT terlihat normal tanpa terlihat patologi otak yang spesifik seperti atrofi, nekrosis dan perdarahan [5].

Penelitian ini menghasilkan efek ekstrak biji teratai (*N. pubescens*) terhadap neurodegenerasi yang diinduksi TMT pada mencit. Kami menemukan bahwa ada manfaat kesehatan neurologis dari ekstrak biji teratai dalam mengurangi defisit perilaku. Temuan kami menggambarkan efek peningkatan kecerdasan otak termasuk pembelajaran cepat dan memori yang kuat, rasa ingin tahu dan eksplorasi yang tinggi, dan memicu keinginan untuk berinteraksi dengan individu asing. Peningkatan perilaku ini

berhubungan dengan perlindungan saraf di area otak yang rentan, termasuk daerah hipokampus. Kerusakan saraf selektif di hipokampus menghubungkan pembelajaran spasial dan defisit memori karena peran utamanya dalam emosi dan kemampuan kognitif [27].

Kesimpulan

Ekstrak biji teratai (*N. pubescens*) mampu meningkatkan gangguan perilaku dan kecerdasan yang diinduksi Trimethyltin. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada efek perlindungan terhadap penurunan kecerdasan pada mencit yang diinduksi TMT seperti defisit belajar dan memori spasial, rasa ingin tahu, dan sosialisasi interpersonal di *Hebb-Williams maze*, *Hole-Board*, dan uji interaksi sosial. Biji teratai dengan demikian merupakan kandidat yang baik untuk penyelidikan lebih lanjut yang pada akhirnya dapat menghasilkan penggunaan klinis. Oleh karena itu, penyelidikan lebih lanjut diperlukan untuk menjelaskan kemungkinan mekanisme yang mendasari hasil yang dilaporkan penelitian ini pada tingkat molekuler dan mengevaluasi potensi biji teratai untuk penggunaan klinis pada gangguan neurodegeneratif seperti AD.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah Program Kompetitif Nasional yaitu Skema Penelitian Pascasarjana Penelitian Tesis Magister Tahun 2022 (Kontrak No. 086/E5/PG.02.00. PT/2022; PIC Putra Santoso).

Referensi

- Li Y, Liu R, Ji W, Li Y, Liu L, Zhang X. Delivery systems for theranostics in neurodegenerative diseases. Vol. 11, Nano Research. Tsinghua University Press; 2018. p. 5535–55. <https://doi.org/10.1007/s12274-018-2067-z>
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Lee S, Yang M, Kim J, Kang S, Kim J, Kim JC, et al. Trimethyltin-induced hippocampal neurodegeneration: A mechanism-based review. *Brain Res Bull*. 2016;125:187–99. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.07.010>
- Liu Z, Lv J, Zhang Z, Wang B, Duan L, Li C, et al. The main mechanisms of trimethyltin chloride-induced neurotoxicity: Energy metabolism disorder and peroxidation damage. *Toxicol Lett*. 2021;345:67–76. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.04.008>
- Kang JY, Park SK, Guo TJ, Ha JS, Lee DS, Kim JM, et al. Reversal of Trimethyltin-Induced Learning and Memory Deficits by 3,5-Dicaffeoylquinic Acid. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:13. <https://doi.org/10.1155/2016/6981595>

- Yuliani S. The neuroprotective effects of an ethanolic turmeric (*Curcuma longa* L.) extract against trimethyltin-induced oxidative stress in rats The neuroprotective effects of an ethanolic turmeric (*Curcuma longa* L.) extract against trimethyltin-induced oxidativ. *Nutr Neurosci*. 2018;0(0):1–8. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1447267>
- Kennedy RE, Cutter GR, Fowler ME, Schneider LS. Association of Concomitant Use of Cholinesterase Inhibitors or Memantine with Cognitive Decline in Alzheimer Clinical Trials: A Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2018;1(7):1–10. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.4080>
- Bajpai VK, Alam MB, Ju MK, Kwon KR, Huh YS, Han YK, et al. Antioxidant mechanism of polyphenol-rich *Nymphaea nouchali* leaf extract protecting DNA damage and attenuating oxidative stress-induced cell death via Nrf2-mediated heme-oxygenase-1 induction coupled with ERK/p38 signaling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2018;103(April):1397–407. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.186>
- Tunan AM. Phytochemical Investigation of *Nymphaea pubescens* and Study of its Antimicrobial Activities. East West University; 2008.
- Gudoitye E, Arandarcikaite O, Mazeikiene I, Bendokas V, Liobikas J. Ursolic and Oleanolic Acids: Plant Metabolites with Neuroprotective Potential. *Int J Mol Sci* 2021. 2021;22:4599. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms22094599 Academic>
- Castellano JM, Garcia-Rodriguez S, Espinosa JM, Millan-Linares MC, Rada M, Perona JS. Oleanolic acid exerts a neuroprotective effect against microglial cell activation by modulating cytokine release and antioxidant defense systems. *Biomolecules*. 2019;9(11). <https://doi.org/10.3390/biom9110683>
- Masnunah S, Wiratmini NI, Suarni NMR. Uji Efektivitas Neuroprotektif Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Sel Piramidal Di Hipokampus Dan Korteks Serebri Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Trimethyltin. *Metamor J Biol Sci*. 2020;7(1):30. <https://doi.org/10.24843/metamorfo.2020.v07.i01.p05>
- Depertemen Kesehatan. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. 2017. 213–218 p. <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Tang X, Wu X, Dubois AM, Sui G, Wu B, Lai G, et al. Toxicity of trimethyltin and dimethyltin in rats and mice. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2013;90(5):626–33. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-0975-x>
- Boutet I, Collin CA, Macleod LS, Messier C, Holahan MR, Berry-Kravis E, et al. Utility of the Hebb–Williams maze paradigm for translational research in Fragile X syndrome: A direct comparison of mice and humans. *Front Mol Neurosci*. 2018;11(March):1–16. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00099>
- Can ÖD, Demir Özkay Ü, Üçel Uİ. Anti-depressant-like effect of vitexin in BALB/c mice and evidence for the involvement of monoaminergic mechanisms. *Eur J Pharmacol*. 2013;699(1–3):250–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.10.017>
- Sato A, Kasai S, Kobayashi T, Takamatsu Y, Hino O, Ikeda K, et al. Rapamycin reverses impaired social interaction in mouse models of tuberous sclerosis complex. *Nat Commun*. 2012;3:1292–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms2295>
- Chen P, Chen F, Lei J, Li Q, Zhou B. Activation of the miR-34a-Mediated SIRT1/mTOR Signaling Pathway by Urolithin A Attenuates d-Galactose-Induced Brain Aging in Mice. *Neurotherapeutics*. 2019;16(4):1269–82. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00753-0>
- Wahyuni T, Hidayat S, Narko T. Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Biji Teratai Putih (*Nymphaea Pubescens* Willd) Terhadap Mencit Dengan Metode Transit Intestinal. *JSTFI Indones J Pharm Sci Technol*. 2012;(2):38–45.
- Fitrial, A. Made, S. Soewarno T, G.W. Komang, W. Tutik Y. Potensi biji dan ekstrak biji teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) sebagai pencegah diare pada tikus percobaan yang diintervensi e.coli enteropatogenik. 2012;32(3):308–17.
- Kaur S, Chhabra R, Nehru B. Phytomedicine Ginkgo biloba extract attenuates hippocampal neuronal loss and cognitive dysfunction resulting from trimethyltin in mice. *Eur J Integr Med*. 2013;20(2):178–86. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.10.003>

- [22]. Aliyu, M. K. Atiku, N. Abdullahi, A. A. Imam and Idris A. Kankara M. Evaluation of in vitro antioxidant potentials of *Nymphaea lotus* and *Nymphaea pubescens* seed oils. *Int J Biochem Res Rev.* 2018;24(11–8). <https://doi.org/10.9734/IJBCRR/2018/40107>
- [23]. Song J, Kim YS, Lee DH, Lee SH, Park HJ, Lee D, et al. Neuroprotective effects of oleic acid in rodent models of cerebral ischaemia. *Sci Rep.* 2019;9(1):1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47057-z>.
- [24]. Spagnuolo C, Moccia S, Russo GL. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *Eur J Med Chem.* 2018;153:105–15. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.09.001>
- [25]. Wang DM, Li SQ, Wu WL, Zhu XY, Wang Y, Yuan HY. Effects of long-term treatment with quercetin on cognition and mitochondrial function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurochem Res.* 2014;39(8):1533–43. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1343-x>
- [26]. Rendeiro C, Rhodes JS, Spencer JPE. The mechanisms of action of flavonoids in the brain: Direct versus indirect effects. *Neurochem Int.* 2015;89:126–39. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.08.002>
- [27]. Geloso MC, Corvino V, Michetti F. Neurochemistry International Trimethyltin-induced hippocampal degeneration as a tool to investigate neurodegenerative processes. *Neurochem Int.* 2011;58(7):729–38. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.03.009>.



Copyright © 2022 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)