

# Pengaruh Pengayaan Lingkungan terhadap Gejala Autistic Like Behavior, Uji Experimental Pada Tikus

Dinda Puan Rizka Wiranti<sup>1</sup>, Amel Yanis<sup>2</sup>, Deddy Saputra<sup>3</sup>

## Abstrak

Pengobatan untuk *Autism Spectrum Disorders* (ASD) belum ditemukan saat ini. Paparan *Valproic Acid* (VPA) pada ibu hamil merupakan faktor lingkungan terjadinya ASD pada anak. Patomekanisme diduga adanya gangguan sinaps. Mayoritas orang tua anak ASD mengalami peningkatan stres kronis yang dapat berdampak pada kesehatan fisik dan emosional karena menyebabkan beban sosial dan finansial. Penelitian sebelumnya menemukan aktivitas neuronal bisa distimulasi melalui pengayaan lingkungan. **Tujuan:** Mengetahui pengaruh pengayaan lingkungan terhadap gejala *Autistic Like Behavior* (ALB); penurunan interaksi sosial dan peningkatan gerakan repetitif. **Metode:** Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorik dengan *one group pretest post test without control*. Sampel terdiri dari 6 ekor tikus *Sprague Dawley* (SD) yang diinjeksikan dengan VPA 500 mg/kgBB intraperitoneal yang dilarutkan dalam normal saline menjadi 1.5 ml, kemudian diambil enam ekor anak tikus usia tiga minggu yang mempunyai gejala ALB dan dipindahkan ke kandang pengayaan lingkungan selama empat minggu. Pengamatan dilakukan menggunakan *Closed Circuit Television* (CCTV). Analisis data menggunakan uji t-berpasangan. **Hasil:** Analisis data didapatkan hasil uji t-berpasangan pada perilaku interaksi sosial dan gerakan repetitif adalah  $p=0.001$  dan  $p= 0.003$ . **Simpulan:** Ada perbedaan yang signifikan perilaku interaksi sosial dan gerakan repetitif hewan coba sebelum dan sesudah pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu.

**Kata kunci:** *Autistic Like Behavior*, gerakan repetitif, interaksi sosial, pengayaan lingkungan

## Abstract

*Treatment for Autism Spectrum Disorders (ASD) has not been found. Valproic Acid (VPA) exposure in pregnant women is the environmental factors for ASD in children. The pathomechanism is thought to be a synapse dysfunction. The majority of parents get chronic stress which can have an impact on physical and emotional health because of social and financial burdens. Previous research found neuronal activity could be stimulated through environmental enrichment. Objectives:* To determine the effect of environmental enrichment on *Autistic Like Behavior* (ALB); decreased social interaction and increased repetitive movements. *This research is a laboratory experimental study with one group pretest post test without control. The sample consisted of six Sprague Dawley (SD) injected with intraperitoneal VPA 500 mg/kgBB which had been dissolved in normal saline to 1.5 ml, then six rats aged three weeks who had ALB and were transferred to environmental enrichment cage for four weeks. Observations is using Closed Circuit Television (CCTV). Data analysis using paired t-test. Results:* Social interaction behavior and repetitive movement were  $p = 0.001$  and  $p = 0.003$ . **Conclusion:** There are significant differences in social interaction behavior and repetitive movements of experimental animals pretest and posttest for four weeks of environmental enrichment.

**Keywords:** *Autistic Like Behavior, repetitive movements, social interaction, environmental enrichment*

**Affiliasi penulis:** 1. Prodi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia. 2. Bagian Ilmu Kesehatan Jiwa, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia. 3. Bagian Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.

**Korespondensi:** Dr. dr. Amel Yanis, SpKJ (K), Email: amelyanis@yahoo.co.id Telp: 08129458518

## PENDAHULUAN

*Autism Spectrum Disorders* (ASD) merupakan masalah serius pada bidang psikiatri anak karena 0,3% dari beban penyakit global. Kasus ASD diperkirakan 1 dari 160 anak di dunia dengan 7,6 juta hidup dalam keadaan cacat. Berdasarkan studi epidemiologi yang dilakukan selama 50 tahun terakhir, prevalensi ASD meningkat secara global. Ada banyak kemungkinan penjelasan untuk peningkatan ini, termasuk peningkatan kesadaran, perluasan kriteria diagnostik, alat diagnostik yang lebih baik, dan pelaporan yang lebih baik.<sup>1</sup>

Saat ini jumlah anak autisme semakin meningkat. Berdasarkan data *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) menyatakan bahwa pada tahun 2008 menunjukkan peningkatan anak autisme yang lebih besar yaitu sekitar 60 per 10.000 kelahiran atau 1 dari 125 penduduk. Tahun 2010, rasio anak autisme 1 dari 110 anak, maka di tahun 2012, terjadi peningkatan yang cukup memprihatinkan dengan jumlah rasio 1 dari 88 anak saat ini mengalami autisme. Prevalensi terbaru ini dikemukakan oleh CDC bahwa anak autisme meningkat menjadi 1 dari 59 dalam kurun waktu dua tahun terakhir.<sup>2</sup>

ASD merupakan gangguan pervasif yang ditandai dengan adanya kelainan perkembangan yang muncul sebelum usia 3 tahun dengan ciri gangguan dalam bidang; interaksi sosial, komunikasi, dan perilaku yang terbatas serta gerakan berulang/ repetitif yang dapat dideteksi sejak usia 14 bulan.<sup>3</sup> Selain itu ASD dapat disertai gejala lain berupa epilepsi, gangguan mood, perilaku agresif, menyakiti diri sendiri, gangguan saluran cerna, gangguan tidur, hipersensitif sensorik, hiperaktivitas serta retardasi mental.<sup>4,5</sup>

Mayoritas orang tua dari anak ASD diketahui mengalami peningkatan stres kronis yang dapat berdampak negatif pada kesehatan fisik dan emosional.<sup>6</sup> Hal ini berkaitan dengan beberapa faktor yang berhubungan dengan anak ASD seperti masalah perilaku, keterampilan hidup sehari-hari, jenjang pendidikan, pekerjaan, dan hubungan sosial. Gangguan ini dapat dialami seumur hidup sehingga menimbulkan beban sosial serta finansial karena keterikatan dengan orang tua.<sup>7,8</sup> Orang tua yang mempunyai anak ASD memiliki lebih banyak masalah

keuangan dan memerlukan sejumlah besar koordinasi perawatan kesehatan yang akibatnya mengurangi produktivitas kerja.<sup>9</sup>

Penyebab pasti ASD belum ditemukan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ada pengaruh gen dan lingkungan terhadap terjadinya gangguan ini.<sup>10</sup> Penelitian epidemiologi menunjukkan angka kejadian ASD pada kembar monozigot yaitu 60% sampai 92% dibandingkan kembar dizigot.<sup>11</sup> Beberapa faktor lingkungan seperti usia orang tua, Berat Badan Lahir Rendah (BBLR), multiparitas, infeksi ibu dan paparan zat teratogen selama kehamilan, merupakan faktor risiko nongenetik yang mempengaruhi kerentanan terhadap gangguan ini.<sup>12,13</sup>

Penggunaan VPA pada Ibu selama masa kehamilan trimester pertama dapat meningkatkan risiko malformasi, ASD, dan retardasi mental pada anak-anak. VPA biasanya digunakan untuk mengobati epilepsi, migrain, dan gangguan bipolar.<sup>14</sup> Begitu juga injeksi VPA pada tikus bunting selama masa kehamilan pada hari embrio 12,5 yang menunjukkan karakteristik fenotip yang sama dengan manusia.<sup>15</sup> Sebelumnya telah dilakukan pengamatan bahwa tikus yang diinjeksikan VPA menunjukkan gejala *Autistic Like Behavior* (ALB) seperti defisit interaksi sosial dan peningkatan gerakan berulang/repetitif. Selain itu, paparan VPA pranatal juga menyebabkan berkurangnya densitas spinal dendrit di hipokampus daerah CA1, korteks prefrontal, dan korteks somatosensori.<sup>14</sup>

ASD menunjukkan perubahan struktur neuroanatomi dan mempengaruhi jalur perkembangan saraf selama *intra-uterine*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ASD berhubungan dengan ketidakteraturan organisasi saraf, konektivitas kortikal dan jalur neurotransmitter.<sup>3</sup> Sampai saat ini belum ditemukan terapi definitif yang dapat memperbaiki gejala utama ASD yaitu defisit komunikasi, defisit interaksi sosial, dan gerakan berulang/repetitif. Saat ini *Food and Drug Administration* (FDA) baru menyetujui dua obat, risperidone dan aripiprazole untuk mengobati gejala agresif, melukai diri sendiri dan tantrum pada anak ASD.<sup>16</sup> Namun, diketahui bahwa neuron pada usia muda rentan terhadap efek samping obat sehingga dibutuhkan pendekatan nonfarmakologi untuk memperbaiki gejala ALB.

Sebuah penelitian melaporkan bahwa pengayaan lingkungan bisa memperbaiki gejala ALB seperti defisit interaksi sosial, gerakan berulang/repetitif pada tikus yang terpapar VPA.<sup>17</sup> Berbagai studi juga menyatakan bahwa pengayaan lingkungan mengubah berat dan ketebalan kortikal serta dapat meningkatkan cabang dendrit, jumlah spinal dendrit dan ukuran sinaps pada beberapa neuron. Kemudian, pengayaan lingkungan dapat meningkatkan pembentukan hipokampus dan integrasi lahirnya sel-sel baru pada sirkuit fungsi.<sup>18</sup> Peningkatan pembentukan ini dimediasi oleh mekanisme yang melibatkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan melibatkan sel T dan aktivasi mikroglia.<sup>19,20</sup>

Pengayaan lingkungan dapat meningkatkan level dari neurotrofin, seperti *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) dan *Nerve Growth Factor* (NGF), yang berperan pada *neuronal signaling*.<sup>21</sup> Selain itu, pengayaan lingkungan juga dapat meningkatkan ekspresi dari protein sinaps, seperti *presynaps vesicle protein synaptophysin* dan protein *Postsynaptic Density-95* (PSD-95). Seterusnya dapat menginduksi perubahan ekspresi *N-Methyl-D-Aspartate* (NMDA) dan reseptor *Amino-3-Hydroxy-5Methyl-4-Isoxazole Propionic Acid* (AMPA), yang integral pada *glutamatergic signaling*.<sup>22</sup>

Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa pengayaan lingkungan dengan stimulasi sensoris, kognitif, dan fisik dapat mempengaruhi perilaku, struktur, dan fungsi otak. Pengayaan lingkungan selama awal perkembangan dapat mengurangi kelainan *psychobehavioral* pada *Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide* (PACAP).<sup>23</sup> Setelah dilakukan observasi dan kontrol pada tikus dalam kandang dengan pengayaan lingkungan dapat disimpulkan bahwa pengayaan lingkungan berpotensi dalam memperbaiki gejala ASD.<sup>18</sup>

## METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental "one group pretest post test without control". Rancangan ini mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok sebelum perlakuan dengan sesudah perlakuan.

Populasi adalah anak tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* (SD) yang dilahirkan oleh induk yang baru pertama kali melahirkan dan anak dari induk yang telah disuntik VPA yang baru pertama kali melahirkan dan menunjukkan gejala ALB (+). Anak tikus yang diamati berusia 3 minggu dengan pengayaan lingkungan selama 4 minggu dan berat badan berkisar 15-20 gram.

Sampel penelitian yang dipilih tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memiliki kriteria eksklusi. Kriteria inklusi: Anak tikus sehat dan anak tikus dari induk yang disuntik VPA 500mg/kgBB intra peritoneal yang dilarutkan dalam *normal* saline menjadi 1,5 ml yang dilahirkan oleh induk yang baru pertama kali melahirkan dan menunjukkan gejala ALB (+).<sup>24</sup> Kriteria eksklusi: Tikus yang sakit (tidak mau makan, berat badan menurun  $\geq 10\%$ ) dan selama penelitian hewan coba mati. Besar sampel untuk setiap kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 6 ekor tikus.

Data diperoleh dengan cara menghitung durasi terjadinya Perilaku interaksi sosial (PIS) dan Gerakan Repetitif (GR) selama 10 menit (600 detik) sebelum (*pretest*) dan sesudah (*posttest*) pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu dari dua waktu pengamatan pada jam 18.00-19.00 dan 6.00-7.00 pada masing-masing anak tikus. Gejala ALB dikatakan positif apabila ditemukan interaksi sosial  $< 50\%$  (300 detik) dan gerakan repetitif  $> 2$  menit (120 detik).

Data dianalisis secara statistik berdasarkan variabel yang dinilai menggunakan sistem komputerisasi yaitu analisis univariat dan bivariat. Analisis univariat dilakukan untuk melihat distribusi frekuensi dari masing-masing variabel independen dan variabel dependen. Analisis bivariat dilakukan untuk menganalisis hubungan antara variabel independen dan variabel dependen. Hubungan dua variabel tersebut dianalisis dengan menggunakan uji t-berpasangan dan dikatakan bermakna bila  $p < 0.05$ .

## HASIL

Eksperimen dilakukan pada tikus percobaan yang berlangsung dari bulan Mei-Desember 2018. Pengamatan perilaku interaksi sosial dan gerakan repetitif pada anak tikus usia 3 minggu dengan

pengayaan lingkungan selama 4 minggu dilakukan dalam 10 menit (600 detik). Hasil penghitungan yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 1.** Distribusi rerata PIS dan GR anak tikus usia 3 minggu dengan pengayaan lingkungan selama 4 minggu

Hewan coba	NO	PIS (detik)	GR (detik)
Pretest	1	97	152
	2	85	270
	3	72	140
	4	101	185
	5	142	180
	6	11	121
Post test	1	263	24
	2	339	5
	3	323	33
	4	239	80
	5	354	26
	6	354	21

Berdasarkan data pada Tabel 1 didapatkan distribusi rerata Perilaku Interaksi Sosial dan Gerakan Repetitif anak tikus. Sebelum dilakukan uji statistik terhadap data yang diperoleh, terlebih dahulu dilihat normalitas data pada masing-masing gejala ALB yang dinilai. Dari hasil uji normalitas data perilaku interaksi sosial dan gerakan repetitif pada tikus sebelum (*pretest*) dan sesudah (*posttest*) pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu yaitu ( $p > 0,05$ ). Dari hasil uji normalitas masing-masing gejala ALB didapatkan data berdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Dengan demikian untuk selanjutnya dapat dilakukan uji statistik parametrik uji T berpasangan (*Paired T test*).

**Tabel 2.** Pengaruh pengayaan lingkungan terhadap perilaku interaksi sosial

		Perilaku interaksi sosial		p
		n	IK 95%	
Coba	Posttest	6		

Berdasarkan analisis data pada Tabel 2 didapatkan hasil uji t-berpasangan pada perilaku interaksi sosial adalah nilai sig (2-tailed) sebesar  $p < 0,05$  dengan IK 95% -303,917 sampai -150,750. Probabilitas didapat adalah  $p < 0,05$  maka dapat

disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan perilaku interaksi sosial hewan coba sebelum dan sesudah pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu.

**Tabel 3.** Pengaruh pengayaan lingkungan terhadap gerakan repetitif

		Gerakan repetitif		p
		n	IK 95%	
Hewan	Pretest	6	209,238 – 77,096	0,003
Coba	Posttest	6		

Berdasarkan analisis data pada Tabel 3 didapatkan hasil uji t-berpasangan pada gerakan repetitif adalah nilai sig (2-tailed) sebesar  $p < 0,05$  dengan IK 95% 77,096 sampai 209,238. Karena probabilitas  $p < 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan gerakan repetitif hewan coba sebelum dan sesudah pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan yang bermakna dari perilaku interaksi sosial dan penurunan gerakan repetitif setelah anak tikus diberikan pengayaan lingkungan selama 4 minggu. Berdasarkan analisis data pada Tabel 2 didapatkan hasil uji T berpasangan perilaku interaksi sosial adalah ( $p = 0,001$  ;  $p < 0,005$ ). Berdasarkan analisis data pada tabel 3 didapatkan hasil uji t-berpasangan pada gerakan repetitif adalah ( $p = 0,003$ ;  $p < 0,05$ ). Karena probabilitas  $p < 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara perilaku interaksi sosial dan gerakan repetitif pada anak tikus sebelum dan sesudah pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu. Hasil ini menunjukkan bahwa pengayaan lingkungan dapat memperbaiki gejala ALB, terlihat dengan meningkatnya interaksi sosial dan menurunnya gerakan repetitif pada subyek penelitian.

Pada tahun 2018 Amel Yanis melakukan penelitian terhadap 9 ekor induk tikus dengan 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan dengan pengayaan lingkungan selama 2 minggu didapatkan rata-rata interaksi sosial dari kelompok kontrol positif ke kelompok perlakuan yaitu dari  $182,00 \pm 35,80$  dan  $244,56 \pm 19,06$ .

Peningkatan tersebut secara statistik bermakna ( $p < 0,05$ ). Kemudian juga terdapat penurunan gerakan repetitif dari control positif ke kelompok perlakuan yaitu  $212,11 \pm 41,43$  dan  $160,00 \pm 18,91$ . Penurunan tersebut secara statistik bermakna ( $p < 0,05$ ).<sup>25</sup>

Schneider *et al* telah melakukan pengayaan lingkungan pasca penyapihan pada tikus yang diinjeksi VPA untuk menginduksi efek stimulasi yang kuat pada perkembangan tikus. Dari hari ke 7 sampai 21, tikus menjalani stimulasi multisensor intensif. Setelah masa penyapihan tikus berakhir, dari hari 22 sampai 35 tikus tersebut dipindahkan ke kandang yang berisi mainan yang diganti setiap dua hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengayaan lingkungan mengurangi peningkatan lokomotor dan gerakan berulang/repetitif pada tikus yang diinjeksi VPA, serta meningkatkan perilaku interaksi sosial.<sup>17</sup> Stimulasi perilaku dan aktivitas dapat meningkatkan plastisitas otak dan mengoptimalkan fungsi kognitif.<sup>26</sup>

Pengayaan lingkungan dapat memperbaiki gejala *autistic like behavior* (ALB) dan penyakit neurodegeneratif.<sup>14</sup> Sebagaimana yang dilaporkan oleh Schneider *et al* bahwa pengayaan lingkungan dapat memperbaiki lokomotor yang rendah dan gerakan repetitif, menurunkan kecemasan dan meningkatkan perilaku interaksi sosial pada model tikus yang diinjeksi VPA. Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa perubahan kepadatan *dendritic spine* pada hipokampus CA1 dikaitkan dengan perilaku kognitif seperti belajar dan memori, tetapi juga perilaku seperti kecemasan dan interaksi sosial pada tikus. Pengayaan lingkungan yang diberikan sedini mungkin dapat memperbaiki kepadatan *dendritic spine* pada hipokampus CA1.<sup>17</sup>

Hanover *et al* pada tahun 1999 menyebutkan bahwa keadaan lingkungan yang menstimulasi visuospatial bisa meningkatkan BDNF mRNA di korteks visual.<sup>27</sup> Feyder *et al* melaporkan bahwa pengayaan lingkungan dapat mengubah level PSD-95 dan SHANK2 yang diketahui hilangnya gen PSD-95 pada tikus dapat meningkatkan perilaku berulang atau repetitif dan menurunkan perilaku interaksi sosial.<sup>28</sup> Schmeisser *et al* menunjukkan bahwa tikus yang kekurangan gen SHANK2 menunjukkan berkurangnya kepadatan *dendritic spine* pada hipokampus CA1.<sup>29</sup>

Rangsangan dengan pengayaan lingkungan dapat mengubah kadar neurotropin dalam otak secara signifikan. Dilaporkan bahwa lingkungan yang diperkaya dapat meningkatkan kadar neurotropin seperti NGF, BDNF, dan NT-3 di sebagian wilayah otak. Perubahan ini memiliki hubungan yang signifikan dengan perubahan perilaku pada hewan coba.<sup>30</sup>

Pada penelitian yang telah dilakukan menggunakan ELISA pada 344 tikus didapatkan kadar NGF berkisar 8-14 ng/g berat basah jaringan, setelah diberikan pengayaan lingkungan didapatkan kadar NGF berkisar 17 ng/g berat basah jaringan. Hal ini membuktikan bahwa terdapat peningkatan kadar NGF pada hewan coba yang terpapar pengayaan lingkungan.<sup>22</sup>

Hewan coba dengan kandang standar diketahui memiliki nilai yang lebih rendah untuk setiap area di otak, termasuk *basal forebrain* dan pembentukan hipokampus. Hal ini berkaitan dengan penurunan tingkat aktivitas neuronal dalam pembentukan hipokampus dan korteks serebral sehingga mengarah pada penurunan aktivitas sinaptik yang kronis pada hewan coba dengan kandang standar. Ada kemungkinan bahwa beberapa efek perilaku yang terlihat pada hewan coba dengan kandang standar bisa melalui perubahan yang dimediasi neurotropin, misalnya kadar somatostatin dan neuropeptide Y pada pembentukan hipokampus. Pada hewan coba dengan pengayaan lingkungan ditemukan adanya peningkatan level somatostatin kortikal. Hal ini berkaitan dengan neuroplastisitas.

Penurunan kadar NGF dan BDNF di otak basal hewan coba dengan kandang standar ditemukan penurunan reseptor trkA dan hilangnya kepadatan neuron kolinergik di basal otak depan. Hal tersebut dapat mempengaruhi kinerja memori.<sup>22</sup>

## SIMPULAN

Perilaku interaksi sosial dan gerakan repetitif adalah terdapat perbedaan yang signifikan hewan coba sebelum dan sesudah pemberian pengayaan lingkungan selama 4 minggu dan

Terdapat kenaikan interaksi sosial dan penurunan durasi gerakan repetitif pada tikus yang mengalami gejala ALB dan mendapatkan pengayaan lingkungan selama 4 minggu.

## SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan memeriksa gejala ALB (*Autistic Like Behavior*) lain seperti gangguan komunikasi dan gejala lainnya serta pengaruhnya terhadap pengayaan lingkungan yang diberikan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO). Autism spectrum disorders. 2017 (diakses Mei 2018). Tersedia dari: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders>
2. Centers for Disease Control and Prevention. Autism spectrum disorders. 2018 (diakses Mei 2018). Tersedia dari: <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/data.html>
3. Pardo CA, Eberhart CG. The Neurobiology of autism. *Brain Pathol.* 2007;17:434-47.
4. Amaral DG. The promise and the pitfalls of autism research: an introductory note for new autism researchers. *Brain Res.* 2011;1380:1-10.
5. Kazdoba TM, Leach PT, Crawley JN. Behavioral phenotypes of genetic mouse models of autism. *Genes Brain Behav.* 2016;15:7-26.
6. Vohra R, Madhavan S, Sambamoorthi U, Peter SC. Access to services, quality of care, and family impact for children with autism, other developmental disabilities, and other mental health conditions. *Autism.* 2014;18(7):815-26.
7. Keenan BM, Newman LK, Gray KM, Rinehart NJ. Parents of children with ASD experience more psychological distress, parenting stress, and attachment-related anxiety. *J Autism Dev Disord.* 2016; 46(9):2979-91.
8. Green SA, Carter AS. Predictors and course of daily living skills development in toddlers with autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord.* 2014;44(2):256-63.
9. Neri EM, Vila D, Santiago K, Garcia P, Canino G. The prevalence of psychiatric disorders and mental health services utilization by parents and relatives living with individuals with autism spectrum disorders in puerto rico. *J Nerv Ment Dis.* 2018;206(4):226-30.
10. Lyaal K, Rebecca JS, Irva HP. Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders. *Int J Epidemiol.* 2014;43(2):443-64.
11. Yang MS, Gill M. A review of gene linkage, association and expression studies in autism and an assessment of convergent evidence. *Int J Dev Neurosci.* 2007;25(2):69-85.
12. Geschwind DH, Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Curr Opin Neurobiol.* 2007;17(1):103-11.
13. Beata T, Bolton P, Happe F, Rutter M, Rijdsdijk F. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *J Child Psychol Psychiatry.* 2016;57(5):585-95.
14. Hiroshi Y, Hara Y, Ago Y, Takano E, Hasebe S, Nakazawa T. Environmental enrichment attenuates behavioral abnormalities in valproic acid-exposed autism model mice. *Behav Brain Res.* 2017; 333: 67-73.
15. Chiara N, Fahnestock M. The valproic acid induced rodent of autism. *J Expneurol.* 2018;29:217-27.
16. Food and Drug Administration. Autism: beware of potentially dangerous therapies and products. 2017 (diakses Maret 2019). Tersedia dari: <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm394757.htm>
17. Schneider T, Turczak J, Przewlocki R. Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: Issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacology.* 2006;31:36-46.
18. Jess N, Anthony JH. Enriched environments, experience dependent plasticity and disorders of nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7(9):697-709.
19. During MJ, Cao L. VEGF, a mediator of the effect of experience on hippocampal neurogenesis. *Curr. Alzheimer Res.* 2006;3(1):29-33.
20. Ziv Y, Ron N, Butovsky O, Landa G, Sudai E, Greenberg N, *et al.* Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci.* 2006; 9 (2): 268-75.

21. Ickes BR, Pham TM, Sanders LA, Albeck DS, Mohammed AH, Granholm AC. Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp Neurol*. 2000;164(1):45-52.
22. Naka F, Narita N, Okado N, Narita M. Modification of AMPA receptor properties following environmental enrichment. *Brain Dev*. 2005;27(4):275-8.
23. Woo CC, Leon M. Environmental enrichment as an effective treatment for autism: a randomized controlled trial. *Behav Neurosci*. 2013;127(4):487-97.
24. Hara Y, Maeda Y, Kataoka S, Ago Y, Takuma K, Matsuda T. Effect of prenatal valproic acid exposure on cortical morphology in female mice. *J Pharmacol Sci*. 2012;118(4):543-6.
25. Yanis A. Pengaruh pengayaan lingkungan terhadap gejala *autistic like behavior*, ekspresi protein neureksin dan neuroligin pada regio korteks prefrontal [disertasi]. Padang: Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas; 2018.
26. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002;25(6):295-301.
27. Hanover JL, Huang ZJ, Tonegawa S, Stryker MP. Brain-derived neurotrophic factor overexpression induces precocious critical period in mouse visual cortex. *J Neurosci*. 1999;19(22):40.
28. Feyder M, Karlsson RM, Mathur P, Lyman M, Bock R, Momenan R, *et al*. Association of mouse Dlg4 (PSD-95) gene deletion and human DLG4 gene variation with phenotypes relevant to autism spectrum disorders and Williams'syndrome. *Am J Psychiatry*. 2010;167(12):1508-17.
29. Schmeisser MJ, Ey E, Wegener S, Bockmann J, Stempel AV, Kuebler A, *et al*. Autistic-like behaviours and hyperactivity in mice lacking ProSAP1/Shank2. *Nature*. 2012;486(7402):256-60.
30. Korte M, Kang H, Bonhoeffer T, Schuman E. A role for BDNF in the late-phase of hippocampal long-term potentiation. *Neuropharmacology*. 1998; 37(4):553-9.