

IDENTIFIKASI PREPARAT GOSOK TULANG (*BONE*) BERDASARKAN TEKNIK PEWARNAAN

Sri Wahyuni

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Malang
e-mail : swahyuni48@gmail.com

Abstrak

Preparat gosok tulang (*bone*) diperoleh melalui metode mikroteknik dengan cara merebus dan menggosok tulang setipis mungkin. Metode gosok digunakan untuk mendapatkan sediaan yang sulit diris (*section*) atau sulit mendapat sediaan dengan ketebalan merata yaitu pada jaringan yang sifatnya keras seperti sediaan tulang, gigi dan jaringan keras lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bagian-bagian jaringan tulang femur ayam, yang dapat teramati secara mikroskopis melalui preparat gosok tulang dengan teknik pewarnaan. Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang, Metode pengumpulan data dilakukan dengan mengamati secara mikroskopis, mengidentifikasi dan preparat gosok dengan teknik pewarnaan. Data hasil pengamatan ditabulasikan, dianalisis dan didiskripsikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa struktur histologis preparat tulang femur ayam tanpa pewarnaan, dapat teridentifikasi bagian-bagiannya namun kurang jelas dan kurang kontras. Dengan menggunakan pewarna daun jati muda (*Tectona Grandis*) dan filtrat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), struktur histologis preparat lebih jelas dan lebih kontras. Struktur histologis yang teramati secara jelas dalam sistem Havers yaitu canalis Havers, lamella Havers, canaliculi, lacuna osteosit. Dengan menggunakan konsentrasi berbeda menghasilkan kejelasan dan kontras warna yang berbeda pula. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai sumber belajar dan media dalam pembelajaran biologi maupun kegiatan praktikum pada mata kuliah mikroteknik, histologi dan fisiologi manusia dan fisiologi hewan.

Kata Kunci: Preparat Gosok tulang (*bone*), teknik Pewarnaan preparat, struktur histologis

PENDAHULUAN

Seiring dengan kebutuhan preparat mikroteknik yang berkualitas sebagai sumber belajar yang semakin meningkat maka peningkatan kualitas proses maupun hasil dalam pembuatan preparat mikroteknik terus diupayakan. Salah satunya adalah pembuatan preparat gosok tulang (*bone*). Penelitian terkait kualitas preparat gosok dengan pewarnaan belum banyak dilakukan orang. Preparat gosok diperoleh melalui metode mikroteknik dengan cara merebus dan menggosok tulang setipis mungkin. Metode gosok digunakan untuk mendapatkan sediaan yang sulit diris (*section*) atau sulit mendapat sediaan dengan ketebalan merata. Metode gosok dapat dipakai untuk pembuatan jaringan yang sifatnya keras seperti sediaan tulang, gigi dan jaringan keras lainnya.

Metode gosok dengan cara menggergaji tulang dan merebusnya dalam air mendidih sampai beberapa waktu, lalu potongan tulang yang kecil digosok dengan arah yang sudah ditentukan sebelumnya seperti arah serong, vertikal dan horisontal. Pembuatan preparat gosok

dengan tanpa pewarnaan sudah lama dilakukan. namun demikian preparat tulang tidak kurang begitu jelas terlihat secara mikroskopis. Berbagai upaya terus dilakukan untuk meningkatkan kualitas preparat salah satu diantaranya adalah dengan menggunakan teknik pewarnaan (*staining*). Beberapa pertimbangan yang perlu dilakukan untuk mendapatkan bahan pewarna yang tepat, bagaimana cara memperolehnya, kapan waktu menggunakannya, berapa lama. bagaimana cara memprosesnya, berapa biaya yang diperlukan dan lain-lain (Wahyuni, 2009).

Tulang terdapat zat kapur dalam bentuk kalsium karbonat (CaCO_3) dan kalsium fosfat. Bahan - bahan tersebut tulang dibentuk dan bersifat keras dan tidak lentur seperti tulang rawan. Tulang juga memiliki struktur yang cukup rumit, maka perlu dilakukan preparasi dengan mengacu tahapan-tahapan yang rumit pula, hal tersebut tujuannya agar preparat yang akan dibuat menghasilkan tampilan yang jelas dan dapat diidentifikasi sesuai yang diharapkan (Gunarso, 1989).

Salah satu upaya dalam meningkatkan kualitas preparat adalah melalui beberapa teknik pewarnaan misalnya dengan menggunakan pewarna daun jati muda (*Tectona grandis*) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Dalam teknik pewarnaan tersebut memerlukan suatu proses filtrasi dalam pembuatan pewarnaan untuk mempermudah pengamatan suatu sel atau jaringan dalam pembuatan preparat gosok tulang (Gresby, 2013 dan Handayani, 2012). Pewarna alami tersebut mengandung pigmen antosianin yang cukup tinggi. Pigmen antosianin adalah kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar dalam tanaman (Abbas, 2003). Antosianin adalah suatu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonol, flavon-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanol adalah kelas tambahan flavonoid yang berada dalam oksidasi dari antosianin. Larutan pada senyawa flavonoid adalah tak berwarna atau kuning pucat (Harborne, 1987). Antosianin stabil pada pH 3,5 dan suhu 50°C mempunyai berat molekul 207,08 g/mol dan rumus molekul $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}$ (Fennema, 1996).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan mengenai "Pengaruh Lama Perebusan dan Arah Gosok terhadap Kualitas Preparat Gosok Tulang Femur Ayam" (Wahyuni, 2010). Fokus penelitian sebelumnya adalah lama perebusan dan arah gosok. Perebusan yang tidak tepat dapat berakibat tulang masih terlalu keras sehingga sulit diiris atau terlalu lunak sehingga tulang hancur dan tidak bisa diiris. Dari penelitian ini didapatkan hasil lama perebusan yang sesuai dan arah gosok yang benar agar ditemukan bentukan- bentukan berupa gambaran *system havers* yang jelas strukturnya. Cara gosok satu arah dapat membantu kejelasan preparat gosok dan tidak merusak sistem Havers (Wahyuni, 2009). Arah gosok horisontal memperjelas sistem havers (Wahyuni, 2010). Namun dalam penelitian tersebut belum diungkap lebih jauh tentang kualitas preparat gosok tulang femur ayam yang diberi pewarnaan daun jati muda (*Tectona grandis*) maupun kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bagian-bagian jaringan tulang femur ayam, yang dapat teramati secara mikroskopis melalui preparat gosok tulang dengan teknik pewarnaan. Hasil penelitian ini diharapkan akan memberikan peluang diperolehnya preparat gosok tulang yang berkualitas. Preparat gosok tulang yang berkualitas akan mempermudah penelaahan preparat mikroteknik tentang bagian-bagian jaringan tulang dan sistem Havers. Kelemahan dari metode gosok sebelumnya adalah kurang kontrasan warna, karena dalam

pembuatan preparat gosok yang dilakukan adalah preparat gosok yang tanpa pewarnaan. Kejelasan preparat diperoleh melalui proses clearing dengan menggunakan xylol. Upaya pengkajian pembuatan preparat gosok tulang yang berkualitas senantiasa dilakukan diantaranya adalah menggunakan teknik pewarnaan bahan alami daun jati muda (*Tectona grandis*) pewarna kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang berusaha mendeskripsikan dan menginterpretasikan preparat gosok tulang femur ayam dengan teknik pewarnaan yang berbeda. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kualitas pewarnaan yang dihasilkan dari pewarna alami daun jati muda (*Tectona grandis*) pewarna kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). pada preparat gosok tulang ayam (*Gallus sp.*)

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang yang beralamat di Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang. Bulan Juni – Desember 2014.

Metode pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara pengamatan langsung menggunakan mikroskop, dari pengamatan langsung tersebut kemudian preparat gosok yang terlihat jaringan tulang femur secara melintang difoto menggunakan Olympus Digital Camera. Selanjutnya diadakan penelaahan mikroskopis secara langsung terhadap jaringan tulang, serta foto mikroskopis tersebut. Faktor yang diamati adalah jaringan tulang (system Havers dan bagian-bagiannya). kekontrasan warna dan kejelasan preparat.

Indikator Kejelasan Preparat yang Diamati meliputi:

No	Kriteria	Indikator
1	Sangat jelas	Apabila dapat mewarnai struktur tulang sistem havers dengan sangat jelas sehingga bagian-bagian pada jaringan tulang dapat dibedakan dengan sangat jelas.
2	Jelas	Apabila dapat mewarnai sistem havers dengan jelas sehingga bagian-bagian pada jaringan tulang, dapat dibedakan dengan jelas.
3	Tidak jelas	Apabila bagian-bagian sistem havers tidak dapat dibedakan dengan jelas

Indikator Kekontrasan Preparat yang Diamati meliputi:

No	Kriteria	Indikator
1	Sangat kontras	Apabila warna terikat dengan sangat kuat pada struktur tertentu yaitu pada struktur tulang sistem havers (tidak mewarnai semua jaringan).
2	Kontras	Apabila pewarna terikat kuat pada struktur tertentu yaitu pada stuktur tulang, gambaran sistem havers (tidak mewarnai semua jaringan).
3	Tidak kontras	Apabila pewarna terikat pada semua struktur tulang system Havers (mewarnai seluruh jaringan).

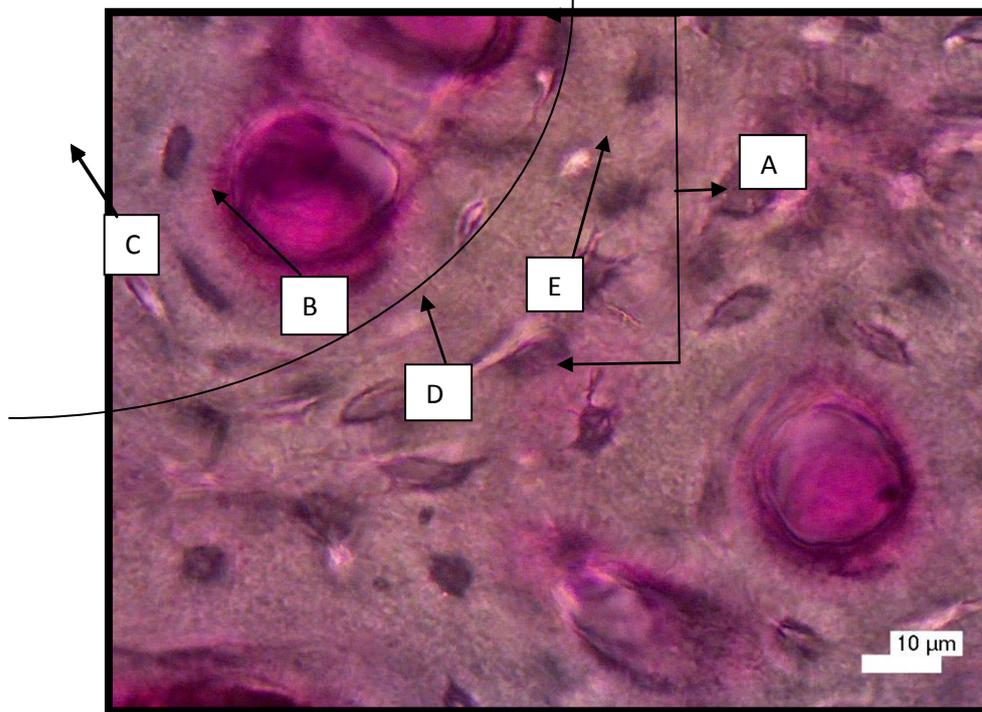
Proses analisis data disajikan dengan cara deskriptif kualitatif terkait kriteria kejelasan preparat dan kekontrasan warna

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pewarna alami filtrat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daun jati muda (*Tectona grandis*) dapat digunakan

sebagai pewarna alami dalam pembuatan preparat gosok tulang ayam (*Gallus sp.*). Foto-foto preparat yang diidentifikasi disajikan pada Gambar 1. Preparat Gosok Tulang Ayam (*Gallus sp.*) dengan Pewarnaan Filtrat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) perbesaran 1000x. Sedangkan Gambar 2A sampai Gambar 2I, menunjukkan foto preparat dengan berbagai teknik pewarnaan. Gambar 2J adalah foto preparat tanpa pewarnaan, Gambar 2K dan 2L adalah Foto SEM (*Scanning Electron Microscope*) preparat gosok tulang.

Kejelasan preparat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya pada saat pengasahan dan penggosokan tulang yang kurang merata mengakibatkan di setiap jaringan-jaringan tulang tidak terlalu jelas, kurangnya ketelitian pada saat proses penggosokan mengakibatkan struktur tulang mengalami kerusakan (Wahyuni, 2009).



Gambar 1.1 Foto Preparat Gosok Tulang Ayam (*Gallus sp.*) 1000x
(doc. Lab Bio, 2014)

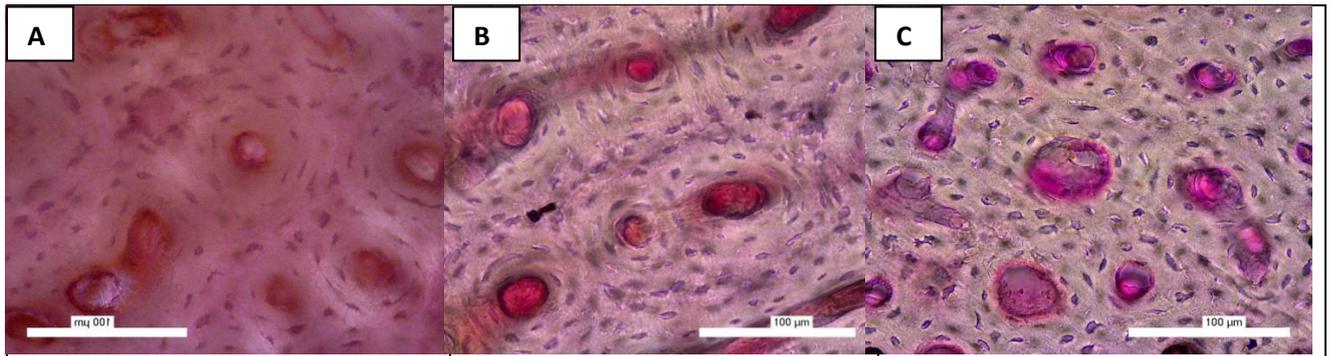
Keterangan

A : Sistem Havers
B : Canalis Havers

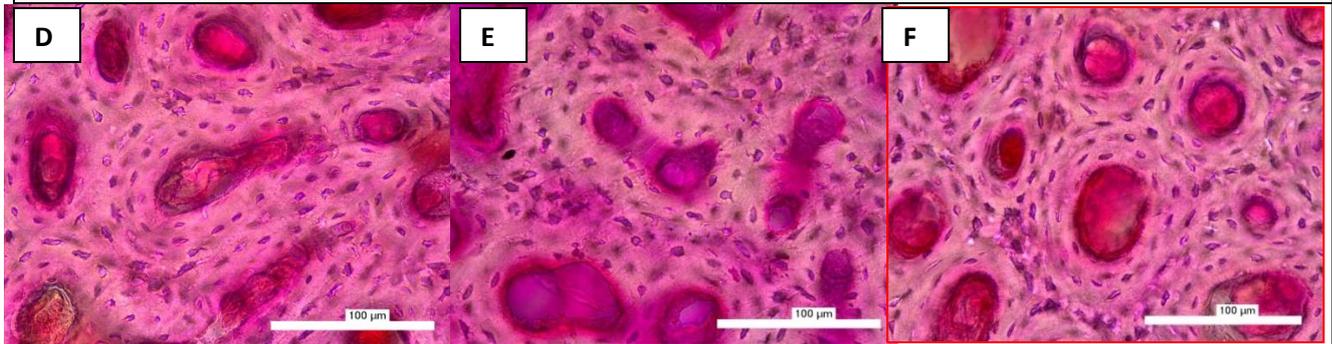
C : Lacuna
D : Lamella

E : Canaliculi

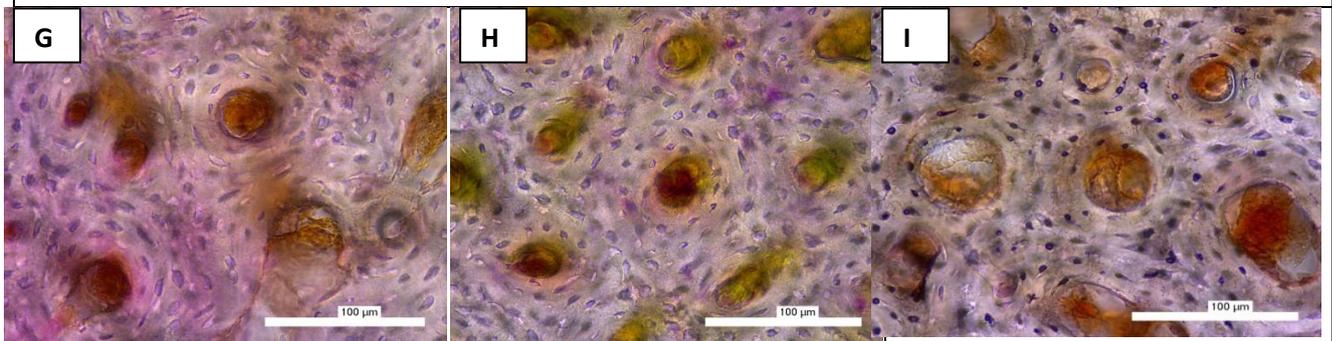
Gambar di atas menunjukkan bahwa pewarnaan preparat gosok tulang femur ayam (*Gallus sp.*) dengan berbesaan 1000X, Nampak jelas bagian-bagiannya, sedangkan bagian bagian yang dapat teramati adalah, system Haves, Lamella lamella Havers, canalis Havers. Lacuna, Sedangkan canaliculi harus dilihat dengan seksama, karena merupakan saluran halus.



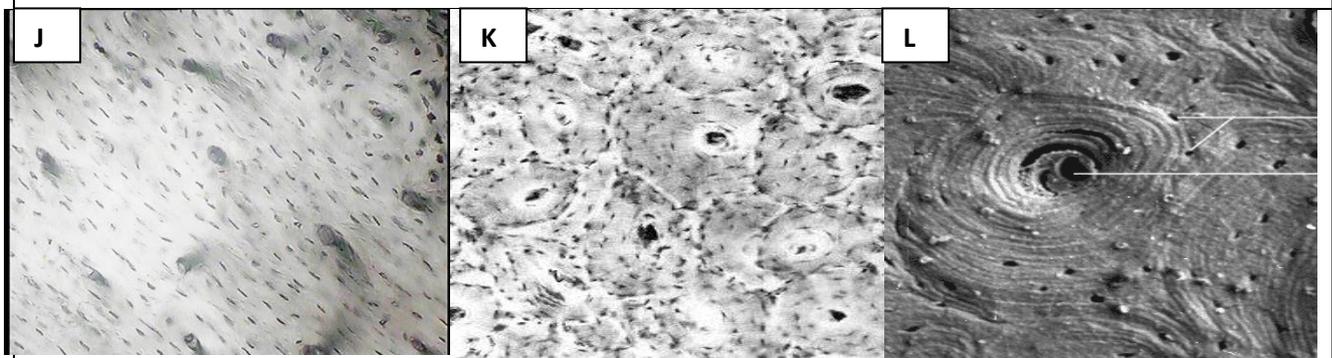
Gambar A,B,C, Preparat Gosok Tulang Pewarna kulit Buah Naga Merah (warna Ungu)



Gambar D,E,F, Preparat Gosok Tulang Pewarna kulit Buah Naga Merah (warna Merah Muda) 400x



Gambar G,H,I, Preparat Gosok Tulang Pewarna Daun Jati Muda (warna Coklat Kehijauan) 400x



Gambar J. K Preparat Gosok Tulang Tanpa Pewarnaan, 100x Gambar L Scanning Electron Micrograph (SEM) of a Haversian system x800.

Sumber (<http://www.gla.ac.uk/t4/~fbls/files/fab/tutorial/generic/bonet.html>. diakses 7 Agustus.2014)

Berdasarkan gambar di atas terlihat bahwa tingkat kejelasan dan kekontrasan preparat berbeda antara preparat yang menggunakan pewarnaan dibandingkan tanpa menggunakan pewarnaan. Pada preparat gosok dengan pewarnaan filtrat kulit buah naga merah nampak jaringan tulang sistem Havers yang lebih jelas dan lebih kontras dibandingkan preparat gosok tanpa pewarnaan. Gambar 2 A, B, C menunjukkan bahwa preparat Gosok Tulang femur ayam (*Gallus sp.*) dengan menggunakan teknik Pewarnaan kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) menghasilkan warna Ungu, dengan tingkat kejelasan dan kekontrasan yang semakin meningkat. Gambar 2 D, E, F menunjukkan bahwa preparat Gosok Tulang femur ayam (*Gallus sp.*) dengan menggunakan teknik Pewarnaan kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) menghasilkan merah muda, dengan tingkat kejelasan dan kekontrasan yang semakin meningkat. Gambar G, H, I, menunjukkan preparat gosok tulang pewarna daun jati muda (*tectona grandis*) warna coklat kehijauan dengan tingkat kejelasan dan kekontrasan yang semakin meningkat. Gambar J,K. menunjukkan preparat gosok tulang tanpa pewarnaan, dimana preparat kurang kontras meskipun komponen-komponennya sudah bisa terlihat, Gambar L menunjukkan *Scanning Electron Micrograph* (SEM) dari sebuah system Havers dengan perbesaran 800x, Pada gambar ini lebih nampak jelas lamella-lamella Havers dan batasan dari sebuah system Havers lebih nampak jelas disbanding dengan mikroskop biasa.

Ketidajelasan preparat dapat disebabkan dari bermacam-macam faktor. ketidakjelasan preparat yang dibuat dikarenakan penggosokan tulang yang kurang merata sehingga mengakibatkan bagian – bagian sistem Havers terlihat kurang jelas, terutama bagian yang terlalu tebal. Selain itu kurang tepatnya proses pembuatan larutan dan waktu pemberian pewarna pada tulang agar preparat dapat terwarnai secara sempurna. Hal tersebut sebagai bahan kajian untuk lebih berhati-hati dalam memberi perlakuan pada jaringan tulang.

Selain itu, ketidakjelasan preparat dapat dikarenakan adanya proses penjernihan menggunakan xylol setelah perlakuan pemberian pewarna, dimana xylol murni tersebut berfungsi untuk menjernihkan jaringan (clearing), namun jika terlalu lama direndam dalam larutan xilol maka hal tersebut akan menyebabkan jaringan menjadi kering, rapuh dan getas sehingga hasil akhir dari pembuatan sediaan yang telah jadi justru tidak akan bertahan lama (Suntoro, 1983).

Tulang terdiri dari system-sistem Havers. Sistem Havers merupakan saluran yang berisi serabut saraf, pembuluh darah dan aliran limfa. Setiap sistem Havers terdiri dari saluran Havers Canalis (saluran) yaitu suatu saluran yang sejajar dengan sumbu tulang, didalam saluran terdapat pembuluh-pembuluh darah dan syaraf. Sekeliling sistem Havers terdapat lamela-lamela yang konsentris dan berlapis-lapis. Lamela adalah suatu zat interseluler yang berkapur. Pada lamela terdapat rongga-rongga yang disebut lacuna, didalam lacuna terdapat osteosit, dari lacuna keluar menuju ke segala arah saluran-saluran kecil yang disebut canaliculi yang berhubungan dengan lacuna lain atau canalis Havers. Canaliculi penting dalam nutrisi osteosit, diantara sistem Havers terdapat lamella interstitial yang lamella-lamelanya tidak berkaitan dengan sistem Havers.(Finn Geneser, 1992).

Pembuluh darah dari periosteum menembus tulang kompak melalui saluran Volkman dan berhubungan dengan pembuluh darah saluran Havers, kedua saluran ini arahnya tegak lurus dan tulang spons tidak mengandung sistem Havers. Canaliculi merupakan saluran-

saluran halus dalam matriks, merupakan tempat uluran sitoplasma osteosit. Diantara sistem Havers terdapat lamella-lamela tulang yang susunannya tidak teratur disebut lamela intersisial. Lacuna merupakan ruangan kecil yang terdapat diantara lempengan - lempengan yang mengandung sel tulang. Lacuna juga terdapat diantara lamela intersisial, lamela tulang sirkumferensial luar dan lamela sirkumferensial dalam (Gartner, 2007).

Kekontrasan warna preparat juga dipengaruhi oleh pengenceran pada masing-masing konsentrasi. Pengenceran adalah mencampur larutan pekat (konsentrasi tinggi) dengan cara menambahkan pelarut agar diperoleh volume akhir yang lebih besar. Jika suatu larutan senyawa kimia yang pekat diencerkan, kadang-kadang sejumlah panas dilepaskan. Pengenceran yaitu suatu cara atau metode yang diterapkan pada suatu senyawa dengan jalan menambahkan pelarut yang bersifat netral, lazim dipakai yaitu aquadest dalam jumlah tertentu. Penambahan pelarut dalam suatu senyawa dan berakibat menurunnya kadar kepekatan atau tingkat konsentrasi dari senyawa yang dilarutkan atau diencerkan (Brady,1999).

Dalam pembuatan larutan dengan konsentrasi tertentu sering dihasilkan konsentrasi yang tidak kita inginkan. Untuk mengetahui konsentrasi yang sebenarnya perlu dilakukan standarisasi. standarisasi sering dilakukan dengan titrasi. Zat-zat yang didalam jumlah yang relatif besar disebut pelarut (Baroroh, 2004). Dalam kimia, pengenceran diartikan pencampuran yang bersifat homogen antara zat terlarut dan pelarut dalam larutan. Zat yang jumlahnya lebih sedikit di dalam larutan disebut (zat) terlarut atau solut, sedangkan zat yang jumlahnya lebih banyak daripada zat-zat lain dalam larutan disebut pelarut atau solven (Gunawan, 2004.)

Ketidak kontrasan pewarnaan pada preparat dapat disebabkan dari bermacam-macam faktor, ketidak kontrasan pewarnaan pada preparat yang dibuat dikarenakan perbedaan pada masing-masing perlakuan dan pengaturan waktu pada saat penyerapan zat warna kedalam tulang. Terdapat perbedaan kekontrasan warna pada tiap konsentrasi dan perbedaan tersebut disajikan pada Gambar 2A sampai 2C. (warna ungu) (Gambar 2D sampai 2F (warna merah muda), dan 2G sampai 2I (warna coklat kehijauan).

Menurut Kardi dan Budipramana (1992), pewarnaan bertujuan agar perbedaan sel atau jaringan dapat dilakukan dengan baik. Pada penelitian ini terbukti bahwa filtrat kulit buah naga merah dapat digunakan sebagai bahan pewarna alami dalam pewarnaan preparat gosok tulang ayam. Warna merah yang dihasilkan kulit buah naga merah berasal dari zat warna antosianin yang dikandung kulit buah naga merah tersebut. Pewarna dari filtrat kulit buah naga merah dapat menimbulkan kontras warna antar jaringan tulang sehingga jaringan tulang dapat dibedakan, jadi pewarna ini telah memenuhi tujuan dari pewarnaan jaringan dalam pembuatan preparat.

Antosianin adalah kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar dalam tanaman (Abbas, 2003). Antosianin adalah suatu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonol, flavon-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanol adalah kelas tambahan flavonoid yang berada dalam oksidasi dari antosianin. Larutan pada senyawa flavonoid adalah tak berwarna atau kuning pucat (Harborne, 1987).

Pewarnaan (staining) merupakan pemberian warna pada jaringan atau sel agar mudah dalam mengamati sel atau jaringan dibawah mikroskop cahaya. Zat warna dapat berupa basa

atau asam. Zat warna yang digunakan harus memiliki syarat yaitu senyawa organik kompleks yang mempunyai pembawaan khusus (warna), dapat dipertahankan dalam jaringan, dan terdiri dari gugus kromophore. Adanya gugus kromophore dan radikal auxochrome akan terjadi interaksi muatan dengan sel (ikatan ionik menjadi sintetik atau ikatan kovalen menjadi alami). Tiap bagian dari sel atau komponen dalam sel mempunyai sifat- sifat khusus (afinitas terhadap zat warna tidak sama). Zat warna mempunyai kemampuan khusus dalam mewarnai jaringan sesuai sifatnya.

Proses pewarnaan pada preparat jaringan tulang oleh filtrat kulit buah naga merah dikarenakan adanya reaksi ikatan elektrostatik antara muatan ion zat warna yang bersifat asam akan melepaskan muatan positif dan bagian jaringan tulang yang bersifat basa akan melepaskan muatan negatif sehingga jaringan tulang dapat terwarnai menjadi merah. Zat warna basa memiliki muatan ion negatif sedangkan zat warna asam bermuatan positif. Suntoro (1983) menyatakan bahwa zat warna asam mewarnai bagian sel yang bersifat basa dan sebaliknya, zat warna basa mewarnai bagian sel yang bersifat asam.

Antosianin akan berubah warna seiring dengan perubahan nilai pH. Pada pH tinggi antosianin cenderung bewarna biru atau tidak berwarna, sedangkan untuk pH rendah berwarna merah. Antosianin yang memiliki pH asam mewarnai bagian jaringan memiliki pH basa. Ion positif pada zat warna (H^+) akan terlepas dan berikatan kovalen dengan ion negatif yang ada pada jaringan (Hamid dan Muhlis, 2005), Selain itu adanya matrik tulang yang merupakan bahan anorganik utama dalam matrik tulang adalah kalsium dan fosfor, keduanya membentuk kristal hidroksiapatit yang terletak di samping fibril kolagen dan dikelilingi zat dasar amorf. Ion-ion permukaan hidroksiapatit terhidrasi dan satu lapisan air dan ion terbentuk disekitar kristal tersebut lapisan ini disebut kulit hidrasi / *hydration shell* yang mempermudah pertukaran ion diantara kristal tersebut dan cairan tubuh. Matrik tulang mengandung unsur-unsur yang sama seperti jaringan – jaringan penyambung lainnya, serat-serat dan bahan dasar (Harjana, 2011).

PENUTUP

Kesimpulan

1. Dengan menggunakan pewarna daun jati muda (*Tectona Grandis*) dan filtrat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), struktur histologis preparat lebih jelas dan lebih kontras Struktur histologis preparat tulang femur ayam tanpa pewarnaan, dapat teridentifikasi bagian-bagiannya namun kurang jelas dan kurang kontras.. Struktur histologis yang teramati secara jelas dalam sistem Havers yaitu canalis Havers, lamella Havers, canaliculi, lacuna osteosit.
2. Struktur histologis yang teramati secara jelas dalam sistem Havers yaitu canalis Havers, lamella Havers, canaliculi, lacuna osteosit.
3. Dengan menggunakan teknik pewarnaan yang berbeda menghasilkan kejelasan dan kekontrasan warna yang berbeda pula

Saran

1. dalam pembuatan preparat gosok tulang sehingga diperoleh tingkat kejelasan preparat dan kekontrasan warna secara sempurna.

2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan bahan pewarna alternatif lain dalam pembuatan preparat gosok.
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan kulit buah naga merah sebagai pengganti pewarna alternatif dalam pembuatan preparat mikroteknik lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Finn Geneser, 1992, *Histologi*, Alih Bahasa Yan Tambayong Bina Rupa Aksara
- Gartner, 2007, *Histology*, The Blanskinston Devisions. MC. Graw Hill Book Company Inc. New York Toronto, London.
- Gresby, Aknesia. K.P.C.,. 2013. *Pemanfaatan Filtrat Daun Jati Muda (Tectona Grandis) Sebagai Bahan Pewarna Alternatif Pembuatan Preparat Maserasi Batang Cincau Rambut (Cyclea barbata)*. Skripsi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Gunarso, Wisnu. 1989. *Bahan Pengajaran Mikroteknik*. DEPDIKBUD Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Halim, Johannes. 1995. *Atlas Praktikum Histologi*. EGC
- Handayani, A.P, dan Rahmawati A. 2012. *Pemanfaatan Kuit Buah Naga (Dragon Fruit) Sebagai Pewarna Alami Makanan Pengganti Pewarna Sintetis*. Jurnal Bahan Alam Terbarukan
- Hapsari, Indah. 2012. *Pembuatan Sediaan Tulang dengan Metode Gosok*. Universitas Lambung Mangkurat
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Bandung
- Hidayah, Tri. 2011. *Uji Stabilitas Pigmen dan Antioksidan Hasil Ekstraksi Zat Warna Alami dari Kulit Buah Naga*. Skripsi . Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- Kardi, S. dan Lukas S. B. 1992. *Mikroteknik dan Pembuatan Peraga Biologi*. Surabaya: University Press IKIP Surabaya.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan Histologi dan Histokimia*. Bhratara Karya Aksara. Jakarta.
- Susetyarini, Eko R.R, dan Ariesandy, M. 2012. *Diktat Penuntun Praktikum Fitofarmaka*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Ulinnuha, T. 2010. *Preparat Mikroskopik Sebagai Sumber Belajar*. (<http://www.aagos.ristek.go.id/>, diakses pada tanggal 14 Juli 2014).
- Umayah, Evi, U. dan Amrun, H. 2007. *Uji Aktivitas Antioksidan Ektraks Buah Naga*. Jurnal Ilmu Dasar Vol. 8 No. 1
- Wahyuni, Rekna. 2010. *Pemanfaatan dan Pengolahan Kulit Buah Naga Super Merah. Malang*. Universitas Brawijaya.
- Wahyuni sri, 2008. *Mikroteknik*. UMM Press: Malang.
- Wahyuni sri, 2009. *Buku Petunjuk Praktikum Mikroteknik*. UMM Press: Malang.
- Wahyuni, 2009, *Pengaruh Lama Perebusan terhadap Kualitas Preparat Gosok Tulang Femur Ayam*, Jurusan Pendidikan Biologi UMM

- Wahyuni, 2010, *Pengaruh Cara dan Arah Gosok terhadap Kualitas Preparat Gosok Tulang Femur Ayam*, Jurusan Pendidikan Biologi UMM
- Wibowo, A. 2003. *Identifikasi Jenis-jenis Tumbuhan Penghasil Warna Alami dan Pemanfaatannya dalam Kehidupan Suku Hatam di Kampung Mbenti Distrik Anggi Kabupaten Manokwari*. Skripsi. Fakultas Kehutanan. Universitas Negeri Papua.
- Wisesa, Bobby, T. dan Widjanarko, Bambang, S. 2014. *Penentuan Nilai Maksimum Proses Ekstraksi Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus)*. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 2 No. 3. Universitas Brawijaya Malang.
- Wismaji, Ginanjar. 2010. *Pemanfaatan Pewarna Alam Nabati Sebagai Agen Pewarna Alternatif Untuk Pengamatan Mikroskopis Jaringan Tumbuhan*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.