

Preparasi Rangka Utuh (Whole-Mount Skeleton) Vertebrata Kecil untuk Aktivitas Sains Sekolah

Muhammad Ja'far Luthfi*, Faisal, Syifaillah

Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan,
Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta
Jl. Marsda Adisucipto, Yogyakarta 55281, Indonesia
Email*: jafarluthfi@yahoo.com

Abstract

The first step in almost every investigation of skeletal phenotypes is analysis of whole-mount skeletal preparations. Whole-mount skeletal staining permits evaluation of the shapes and sizes of skeletal elements in their appropriate locations. The technique could be applied in the teaching of skeletal system in high school. Teaching skeletal system would be more attractive and effective using real/preserved specimen compared to those using book/internet source. The aim of the research was to develop staining and clearing method of small vertebrate skeleton specimen using Alizarin Red S and produce teaching aid tools of skeleton system. The specimen were eviscerated, fixed, stained, cleared, and kept in glycerine solution. The specimen is an alternative in high school science teaching and learning..

Keywords: skeleton system, Alizarin Red S, high school, learning source.

Abstrak

Langkah pertama pada hampir semua penelitian fenotip rangka adalah preparasi rangka utuh. Pewarnaan kerangka keseluruhan memungkinkan evaluasi bentuk dan ukuran elemen kerangka di lokasi yang sesuai. Metode ini dapat diaplikasikan dalam kegiatan pembelajaran skeleton di sekolah menengah. Pengajaran sistem rangka akan lebih atraktif jika menggunakan spesimen asli atau awetan berbanding menggunakan buku/sumber internet. Pengamatan langsung memegang peranan penting dalam pemahaman siswa tentang fenomena biologi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan preparasi rangka utuh vertebrata kecil dengan pewarna Alizarin Red S sebagai suatu aktivitas sains di sekolah dan menghasilkan preparat skeleton sebagai sumber belajar sistem rangka. Spesimen diwarnai melalui beberapa tahapan yaitu dikuliti, difiksasi, diwarnai, dijernihkan dan disimpan dalam gliserin. Spesimen ini merupakan alternatif yang kreatif bagi pembelajaran sistem rangka di sekolah menengah.

Kata Kunci: Sistem rangka, kerangka hewan, pengajaran skeleton, *Alizarin Red S*, sekolah menengah, sumber belajar sistem rangka.

PENDAHULUAN

Mengapa hanya menggunakan buku atau sumber online untuk pengajaran skeleton vertebrata? Mengapa tidak memberikan kesempatan bagi siswa yang antusias untuk membuat preparasi skeleton yang memungkinkan mereka mengamati secara langsung struktur anatomi skeleton. Siswa yang bercita-cita kuliah di jurusan biologi, peternakan atau kedokteran hewan akan menunjukkan minat khusus dalam proyek ini. Jika dibimbing dengan tepat, siswa

lain juga akan bersemangat mengikuti kegiatan tersebut.

Skeleton (sistem rangka) merupakan sistem penyokong tubuh vertebrata. Skeleton berfungsi untuk memberikan bentuk dan menegakkan tubuh, sebagai alat gerak, sebagai pelindung organ-organ dalam dan organ yang halus (pembuluh darah dan jaringan saraf), dan sebagai tempat perlekatan otot. Skeleton dibagi menjadi dua yaitu skeleton aksial dan skeleton apendikular. Skeleton aksial terdiri dari tengkorak dan vertebrae (tulang belakang), sedangkan skeleton apendikular terdiri dari tulang-

tulang pada tungkai depan dan tungkai belakang (Kardong, 2002). Vertebrata merupakan hewan yang memiliki endoskeleton (rangka dalam) dan dari salah satu komponennya nama tersebut diambil (vertebra/tulang belakang).

Sistem rangka merupakan salah satu materi mata pelajaran Biologi yang diajarkan di SMA. Materi ini biasa diajarkan dengan menggunakan buku atau gambar dari sumber online. Namun demikian menurut Prokop et al (2007), pengajaran sistem rangka akan lebih atraktif jika menggunakan spesimen asli atau awetan berbanding menggunakan buku. Pengamatan langsung memegang peranan penting dalam pemahaman siswa tentang fenomena biologi. Model mental siswa terhadap suatu fenomena biologi sangat dipengaruhi proses pembelajarannya (Prokop et al, 2007).

National Science Education Standards di USA menegaskan bahwa penelitian sains adalah dasar dari pendidikan sains, yang mana siswa dari semua tingkatan seharusnya memiliki kesempatan untuk melakukan penelitian ilmiah. Eksperimen tidak hanya memberikan informasi tentang suatu sistem organisme, tetapi juga dapat mengembangkan kemampuan dalam observasi, berpikir kritis dan kemampuan eksperimentasi. Siswa yang mengikuti proses sains akan lebih memahami konsep sains, mengapresiasi bagaimana konsep sains ditemukan, dan meningkatkan keterampilan yang diperlukan untuk menyelidiki alam (Greene & Greene, 2001; Newman et al., 2004).

Preparasi dengan cara penjernihan dan pewarnaan rangka bertujuan untuk mendemonstrasikan struktur tulang dan tulang rawan pada hewan (Erdogan et al., 1995; Inouye, 1976). Metode ini umum dilakukan dalam bidang teratologi untuk mengkaji cacat janin. Pada studi teratologi, hewan yang digunakan adalah embrio mencit dan embrio tikus. Oleh karena secara histologi jaringan tulang dan tulang rawan pada embrio dan pada hewan dewasa adalah mirip, demikian pula pada vertebrata kecil dan vertebrata besar, secara teori metode untuk embrio mencit dapat digunakan untuk mendemonstrasikan skeleton pada hewan dewasa atau pada vertebrata yang lebih besar (Junquiera & Carniero, 1988; Leeson & Leeson, 1981). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa metode Inouye untuk pewarnaan tulang dan tulang rawan pada embrio, dapat diaplikasikan pada vertebrata kecil yang sudah dewasa (Luthfi, et. al., 2003; Luthfi, 2003;

Rachman & Luthfi, 2004; Luthfi, 2016; Rakhmiyati & Luthfi, 2018; Luthfi & Soesilo, 2019).

Oleh karena obyek yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah hewan yang telah dewasa, dimana sebagian besar tulang rawan telah mengalami osifikasi, dan juga pembelajaran di sekolah lebih menekankan pada struktur anatomi skeleton secara umum, maka penulis melakukan modifikasi terhadap metode Inouye. Untuk tujuan tersebut, pewarnaan hanya menggunakan Alizarin Red S. Pewarna ini akan mewarna tulang, sedangkan Alcian Blue yang akan mewarnai tulang rawan, tidak diaplikasikan. Hal ini mendatangkan keuntungan dari segi penyederhanaan metode, alat, dan bahan, juga menghemat waktu, sehingga sesuai untuk dilakukan di sekolah dengan melibatkan siswa. Preparat dari hasil preparasi rangka utuh tersebut dapat digunakan dalam pembelajaran di kelas.

BAHAN DAN METODE

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan yang mudah didapati dari sumber lokal, yaitu seekor ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan seekor ular gadung (*Ahaetulla prasina*). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting bedah, pisau bedah, scalpel, pinset, dan wadah kaca (stoples). Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alizarin Red S, etanol, aquades, asam asetat glasial, gliserin, dan KOH.

Metode yang dideskripsikan dalam artikel ini adalah modifikasi dari metode Inouye (1976) untuk digunakan pada vertebrata kecil. Inouye adalah salah satu peneliti pertama yang berhasil menggunakan metode pewarnaan untuk tulang dan tulang rawan sekaligus dengan hasil pewarnaan yang memuaskan. Metode Inouye (1976) adalah metode pewarnaan ganda untuk tulang dan tulang rawan pada mencit untuk keperluan kajian teratologi. Dengan metode ini tulang rawan akan berwarna biru, tulang akan berwarna merah, sedangkan otot dan jaringan lain akan menjadi transparan.

Untuk penyederhanaan metode sehingga sesuai untuk dilakukan di sekolah menengah, dilakukan modifikasi pada metode tersebut dengan hanya menggunakan satu pewarna yaitu Alizarin Red S. Penggunaan hewan dewasa (dimana sebagian besar tulang rawan telah mengalami osifikasi menjadi

tulang) dan tujuan pembelajaran di sekolah yang lebih fokus mempelajari struktur skeleton tanpa membedakan tulang dan tulang rawan secara makroskopis, memungkinkan modifikasi ini yang akan sangat menyederhanakan cara kerja, bahan dan menghemat waktu.

Untuk preparat yang lebih besar dari mencit dan bukan embrio, diperlukan modifikasi pengelupasan kulit dan otot yang lebih masif, penambahan waktu fiksasi, penghilangan lemak, pewarnaan, dan penjernihan. Ini disebabkan karena jaringan dewasa dan vertebrata yang lebih besar memiliki otot dan kulit yang lebih tebal serta jaringan yang lebih kuat, sehingga pewarnaan dan penjernihan akan lebih sukar.

Pewarnaan dan penjernihan spesimen meliputi beberapa tahap. Tahap pertama yaitu pengelupasan kulit. Setelah sisik dibuang, spesimen difiksasi dalam tabung yang berisi alkohol 95% selama 3 hari. Setelah itu kulit dan otot pada spesimen dibuang dengan menggunakan gunting dan pisau bedah. Proses eviserasi (pembuangan kulit dan otot) ini merupakan salah satu proses penting yang menentukan keberhasilan pembuatan preparat. Apabila pembuangan masih menyisakan banyak otot, pewarna akan susah untuk masuk ke jaringan tulang. Namun demikian pembuangan otot yang terlalu banyak akan beresiko memotong jaringan tulang.

Setelah proses tersebut, spesimen dimasukkan lagi dalam etanol 95% yang baru selama 3 hari. Untuk menghilangkan lemak, spesimen yang telah difiksasi tersebut dimasukkan dalam tabung berisi aseton selama 4 hari dengan penggantian aseton baru pada hari kedua. Setelah itu spesimen direndam selama 5 hari dalam larutan pewarna pada suhu 37°C (1 volume 0,1 % Alizarin Red S dalam etanol 95 % + 1 volume asam asetat glasial + 18 volume etanol 70 %). Spesimen dicuci dalam air lalu direndam dalam larutan 1 % KOH selama 5 hari (sehingga transparan) dan selanjutnya direndam berturut-turut dalam campuran gliserin dan KOH 1% dengan perbandingan 20%: 80%; 50% : 50%; 80%: 20%. Terakhir, spesimen disimpan dalam gliserin murni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

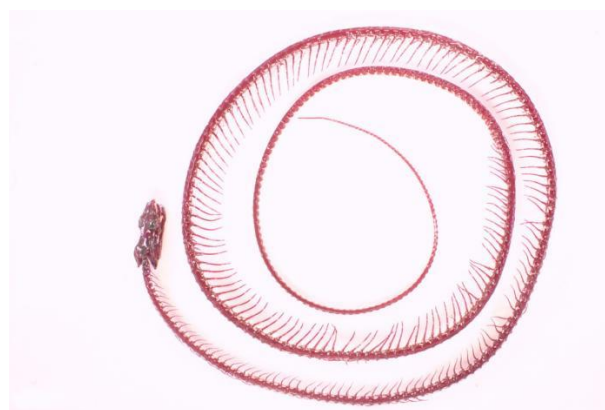
Langkah pertama di hampir semua penelitian fenotip kerangka adalah pembuatan rangka utuh. Pewarnaan

kerangka keseluruhan memungkinkan evaluasi bentuk dan ukuran elemen kerangka di lokasi yang sesuai. Teknik ini merupakan metode utama untuk mendeteksi perubahan pola kerangka (Rigueur & Lyons, 2014). Pembuatan rangka tersebut dapat diterapkan untuk aktivitas sains di sekolah menengah, menghasilkan dua kegiatan yaitu proses sains dalam preparasi skeleton tersebut, dan produk skeleton yang dapat digunakan sebagai bahan ajar.

Penelitian ini telah berhasil mengembangkan metode untuk pewarnaan dan penjernihan spesimen skeleton (tulang) hewan dengan pewarnaan Alizarin Red S sebagai suatu aktivitas sains dan sekaligus menghasilkan alat bantu dalam pengajaran sistem rangka (gambar 1, gambar 2 dan gambar 3).



GAMBAR 1. Struktur rangka ikan mas. Tampak tulang tengkorak, tulang belakang, dan jari-jari ekor ikan.



GAMBAR 2. Struktur rangka ular gadung. Tampak tulang tengkorak, tulang belakang dengan rusuk yang berjumlah sangat banyak.



GAMBAR 3. Perbesaran kuat struktur rangka ular gadung pada bagian posterior tengkorak. Tampak tulang tulang belakang dengan rusuk.

Gambar 1 menunjukkan skeleton ikan mas. Preparasi tersebut menunjukkan tulang-tulang tengkorak, vertebrae (tulang belakang), dan jari-jari ekor ikan yang sesuai untuk kehidupan di air. Gambar 2 dan gambar 3 adalah spesimen skeleton ular gadung. Spesimen ular tersebut menunjukkan adaptasi khusus skeleton vertebrata, yaitu vertebrae yang jumlahnya sangat banyak (\pm 300 ruas vertebrae) yang sesuai untuk kehidupan darat tanpa tungkai.

Dengan spesimen tersebut siswa dapat mengamati langsung struktur dari spesimen asli, dapat mengetahui morfologinya, mempelajari bagian-bagian tulang, mengetahui perbedaan struktur terkait dengan fungsinya, dan mendapat pengalaman langsung tentang skeleton. Siswa dapat lebih mudah memahami cara hidup dan pergerakan ular serta kenampakan morfologi luarnya yang memanjang dengan melihat struktur vertebra ular serta jumlah ruasnya yang sangat banyak dibandingkan dengan ikan. Demikian pula siswa akan dapat memahami kaitan struktur dan fungsi, dimana skeleton ikan menyokong tubuh ikan yang streamlined yang sesuai untuk kehidupan air dan cara hidupnya. Menurut Eshach & Fried (2005), dalam pembelajaran sains spesimen asli memiliki keunggulan berbanding sketsa, gambar, atau buku-buku, atau sumber-sumber online. Spesimen asli akan lebih menarik minat siswa. Selain itu spesimen asli memiliki keunggulan kenampakan detail 3 dimensi yang tidak dimiliki oleh penggambaran sketsa, foto, atau sumber online. Sedangkan alat peraga skeleton sering kali tidak memiliki detail sesuai preparat aslinya.

Preparasi skeleton sebagai suatu kegiatan siswa memiliki keuntungan dalam hal dapat disesuaikan

untuk siswa pada berbagai tingkat kelas dan kemampuan. Penelitian oleh Roberts (1964) tentang skeleton mamal menunjukkan bahwa untuk siswa yang tidak ingin mempelajari keseluruhan skeleton, siswa tersebut dapat mengkolleksi bagian tengkorak saja. Guru kemudian dapat menggunakan tengkorak tersebut untuk pembelajaran anatomi di kelas.

Penelitian ini menghasilkan preparat utuh kerangka ikan mas dan ular gadung yang merupakan dua vertebrata dari kelas yang berbeda yaitu Pisces dan Reptilia, yang hidup pada habitat yang berbeda yaitu air dan daratan, dan memiliki cara hidup yang berbeda. Siswa dengan bimbingan guru dapat mengidentifikasi bagian-bagian tulang dari preparat tersebut, dan mengaitkan struktur skeleton dengan habitat dan cara hidupnya.

Dari hasil pembuatan spesimen ini nampak dengan jelas struktur tulang pada ikan mas dan ular gadung. Skeleton akan terwarna merah sedangkan otot dan jaringan ikat akan menjadi transparan/jernih oleh proses penjernihan dengan KOH. Pada preparat tersebut detail dari skeleton juga dapat diamati seperti prosesus/tonjolan vertebra, tulang rusuk, jari-jari sirip dan detail kecil lainnya.

Gambar 1 menunjukkan skeleton ikan. Siswa dapat mengamati adanya tulang-tulang tengkorak pada ikan, vertebrae, dan jari-jari sirip dan ekor ikan. Dari spesimen tersebut diketahui bahwa jari-jari sirip dan ekor ikan tersusun dari bahan tulang. Dari preparat ular (gambar 2, gambar 3) dapat diamati struktur vertebrae ular yang memiliki rusuk pada vertebrae tubuhnya. Hanya pada bagian ekor, vertebrae ular tidak memiliki rusuk. Rusuk pada ular merupakan tempat perlekatan otot dan membantu pergerakan ular. Preparat tersebut menyediakan gambaran yang ideal untuk mempelajari kaitan antara bentuk dan fungsi.

Pembelajaran dengan cara demikian akan lebih menarik minat siswa. Spesimen tulang ini lebih memudahkan siswa dalam memahami struktur rangka. Pemahaman terhadap struktur anatomi akan memudahkan dalam pemahaman fungsinya. Siswa akan dapat mengamati komponen-komponen dari sistem skeleton, perbedaan sistem skeleton dengan cara hidupnya, perbedaan skeleton di antara kelas hewan, kaitan antara bentuk dan fungsi (bentuk tertentu mencerminkan fungsi tertentu). Selain itu penggunaan spesimen asli akan lebih menarik minat siswa terkait bentuknya yang 3 dimensi, warna yang

menarik, dan pengalaman langsung melihat spesimen asli dari segi visual, taktil dan motorik.

Appleton (2008) mengatakan bahwa sering kali guru sekolah dasar ragu-ragu dalam mengajarkan sains. Alasan utamanya adalah terbatasnya pengetahuan guru tentang konten sains. Paper ini memberikan suatu pengajaran sistem skeleton dengan melibatkan langsung guru dan siswa dalam proses sains sehingga mereka dapat melihat langsung proses sains. Dengan demikian akan timbul kepercayaan diri guru dan siswa untuk mempelajari sains. Matthews et al (1997) mengatakan bahwa siswa memiliki rasa keingintahuan yang tinggi terhadap dunia sekitar mereka, dan alam menawarkan berbagai materi yang mana guru menjadi media untuk memuaskan rasa keingintahuan para siswa dengan mengkaji alam sekitarnya.

Penelitian ini menggunakan hewan lokal yang banyak terdapat di sekitar kita yaitu, ikan mas dan ular gadung. Ini tentunya memudahkan guru untuk mengembangkan media pembelajaran sains sesuai dengan ketersediaan dan kemampuan sekolah. Ini sesuai dengan pendapat Matthews et al (1997) yang mengatakan bahwa alam menyediakan material yang sesuai untuk memenuhi rasa keingintahuan siswa yang begitu tinggi terhadap alam sekitarnya.

Menurut Eshach & Fried (2005), keunggulan spesimen asli untuk pembelajaran seperti tersebut diatas sangat sesuai untuk pembelajaran siswa. Anak-anak (termasuk siswa sekolah menengah) memiliki rasa keingintahuan yang tinggi. Karakter ini sangat sesuai untuk sains mengingat salah satu faktor penggerak sains adalah keingintahuan (*curiosity*). Anak-anak sangat suka melakukan observasi dan memikirkan tentang alam sekitar. Pengeksposan proses sains pada siswa akan mengembangkan sikap positif terhadap sains (Eshach & Fried, 2005; Appleton, 2008). Greene et al (1993) menyatakan bahwa spesimen asli sangat penting dalam semua aspek pembelajaran kognitif di dalam kelas.

Dalam preparasi skeleton ini, aspek terpenting dalam keberhasilan pewarnaan adalah eviserasi kulit dan otot, serta tahapan fiksasi. Kulit dan otot harus sebanyak mungkin dibuang sehingga hanya tersisa sedikit otot. Tetapi perlu diperhatikan agar eviserasi kulit dan otot tidak memotong tulang/rangka itu sendiri. Vertebra memiliki banyak prosesus/tonjolan. Sering kali pada saat pembuangan kulit dan otot, prosesus vertebrae ikut terpotong. Ini tentunya akan

merubah hasil dari morfologi vertebra yang diakibatkan oleh artifak yaitu kekeliruan pemotongan.

Pada penelitian ini, fiksasi (pengawetan/penetapan) dan penghilangan lemak dilakukan lebih lama berbanding metode Inouye yang asli mengingat struktur kulit dan otot spesimen (ikan mas dan ular gadung) lebih tebal dan kokoh berbanding embrio sehingga larutan fiksatif memerlukan waktu lebih lama untuk menembus jaringan. Untuk spesimen yang berbeda diperlukan waktu yang berbeda untuk masa fiksasi, penghilangan lemak, pewarnaan dan penjernihan. Ini tergantung dari spesies, kematangan (embrio atau dewasa), ukuran tubuh, dan organ/bagian tubuh yang dibuat preparasi. Secara umum hewan yang lebih besar dan lebih matang memerlukan masa fiksasi, penghilangan lemak, pewarnaan dan penjernihan yang lebih lama. Lama waktu fiksasi, penghilangan lemak, pewarnaan dan penjernihan dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai panduan dalam pewarnaan untuk hewan lain.

Penelitian ini telah berhasil mengembangkan metode pewarnaan skeleton (tulang dan tulang rawan) untuk pembelajaran sistem skeleton untuk sekolah menengah. Pembelajaran dengan cara ini akan melibatkan guru dan siswa dalam proses sains. Selain itu penggunaan spesimen asli akan lebih mudah dalam pemahaman sistem skeleton dan lebih menarik minat siswa. Proses dan bahan-bahan yang diperlukan dalam kajian ini adalah sederhana, dan dapat diterapkan menggunakan hewan-hewan lokal lain yang ada sesuai dengan ketersediaan di lingkungan sekitar sekolah.

KESIMPULAN

Kajian tentang organisme termasuk sistem rangka adalah bagian penting dari kurikulum sains sekolah menengah. Penggunaan gambar, alat peraga, buku dan internet untuk menjelaskan sistem rangka tidak sepenuhnya dapat menggantikan pengamatan langsung skeleton hewan. Sistem skeleton juga lebih sulit difahami dengan penggunaan media pembelajaran tersebut. Penulis memberikan tantangan untuk guru sekolah menengah dalam mengajarkan sistem rangka. Preparasi rangka utuh vertebrata kecil dan penggunaan skeleton yang dihasilkan merupakan salah satu alternatif kreatif dalam pengajaran dan pembelajaran sistem skeleton.

Penelitian ini telah berhasil mengembangkan metode sederhana preparasi rangka utuh vertebrata kecil sebagai aktifitas dan sumber belajar sistem rangka di sekolah menengah.

DAFTAR PUSTAKA

- Allan Roberts. (1964). The Preparation and Use of Mammal Skeletal Materials for the Science Classroom. *The American Biology Teacher*, 26(6), 416–425. <https://doi.org/10.2307/4440712>
- Appleton, K. 2008. Developing Science Pedagogical Content Knowledge Through Mentoring Elementary Teachers. *J Sci Teacher Educ* 19: 523–545.
- Erdogan, D., Kadioglu, D., Peker, T. 1995. Visualization of the Fetal Skeletal System by Double Staining with Alizarin Red and Alcian Blue. *Gazi Medical Journal* 6: 55-58.
- Eshach, H., Fried, M. N. (2005). Should science be taught in early childhood? *Journal of Science Education and Technology*, 14: 315–336.
- Greene, J.S., B.D. Greene. 2001. Using Amphibians and Reptiles to Learn the Process of Science. *Science Activities* 37 (4): 29-32.
- Greene, E.A., K. R. Smith, J. S. Pendergraft, R. H. Raub, and M. J. Arns. 1993. Technical Note: Equine Skeletal Preservation Techniques to Enhance Teaching Effectiveness'. *Journal of Animal Science*. 71:2270-2274.
- Inouye, M. 1976. Differential Staining of Cartilage and Bone in Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies* 16: 171-173.
- Junquiera, L.C. & Carneiro, J. 1988. *Histologi dasar*. Terjemahan. Edisi ke-3. EGC penerbit buku kedokteran. Jakarta.
- Kardong, K.V. 2002. *Vertebrates Comparative Anatomy, Function, and Evolution*. International Edition. Third Edition. McGraw-Hill Higher Education. New York. USA. hal: 233-236.
- Leeson, T. S., & C.R. Leeson. 1981. *Histology*. Fourth edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 514-534.
- Luthfi M.J. 2002. Kalsifikasi Skeleton Aksial dan Kemampuan Autotomi Regenerat Ekor Kadal (Mabouya multifasciata Kuhl). Tesis. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Luthfi, M.J. 2016. Modified Alizarin Red S-Alcian Blue Staining for Reptilian Skeleton. *Biology, Medicine & Natural Product Chemistry* 5 (1): 19-22. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2016.51.19-22>
- Luthfi, M.J., Soesilo, N.P. 2019. A Simple Method for Clearing and Staining Specimens for The Demonstration of Animal Skeleton. *Biology, Medicine & Natural Product Chemistry* 8 (1): 17-21. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2019.81.17-21>
- Luthfi M.J., Soesilo, N.P., Sagi, M. 2003. Kalsifikasi Skeleton Aksial pada Regenerat Ekor Kadal (Mabouya multifasciata Kuhl). *Jurnal Berkala Ilmiah Biologi* 3 (1): 1-8.
- Matthews, R.W., L. R. Flage, and J. R. Matthews. 1997. Insects as Teaching Tools in Primary and Secondary Education. *Annual Reviews of Entomology* 42:269–89.
- Newman, W.J., S. K. Abell, P.D. Hubbard, J. McDonald, J. Otaala, M. Martini. 2004. Dilemmas of Teaching Inquiry in Elementary Science Methods. *Journal of Science Teacher Education* 15(4): 257–279.
- Prokop, P., M. Prokop, S.D. Tunnicliffe, C. Diran. 2007. Children's ideas of animals' internal structures. *JBE* 41 (2): 62-67.
- Rachman, A., Luthfi, M.J. 2004. Studi Histokimia Kalsifikasi Skeleton Regenerat Ekor Cicak (Hemidactylus sp). *Jurnal Berkala Ilmiah Biologi* 3 (4): 223-230. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Rakhmiyati, R., Luthfi, M. J. 2018. Histological study of common house Gecko (Hemidactylus frenatus) regenerated tail. *Biol. Med. Nat. Prod. Chem.* 5 (2): 49-53. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2016.52.49-53>
- Rigueur, D., & Lyons, K. M. (2014). Whole-mount skeletal staining. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1130, 113–121. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-989-5_9