

PERBANDINGAN STRUKTUR ANATOMI CEREBELLUM PADA
BUNGLON JAWA (*Bronchocela jubata* Duméril & Bibron, 1837),
KADAL (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) DAN
KLARAP (*Draco volans* Linnaeus, 1758)

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Derajat Sarjana S-1



Disusun oleh:

Wahida Amalina

10640009

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2015



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga FM-UINSK-BM-05-07/RO

PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/1721 /2015

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : Perbandingan Struktur Anatomi *Cerebellum* pada Bunglon Jawa (*Bronchocela jubata* Dumeril & Bibron, 1837) Kadal (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco volans* Linnaeus, 1758)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Nama : Wahida Amalina

NIM : 10640009

Telah dimunaqasyahkan pada : 29 Mei 2015

Nilai Munaqasyah : A

Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

M. Jafar Luthfi, Ph.D
NIP.19741026 200312 1 001

Pengaji I

Prof.Dr.Nyoman Puniawati, S.S.U

Pengaji II

Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si
NIP. 19790523 200901 2 008

Yogyakarta, 18 Juni 2015

UIN Sunan Kalijaga

Fakultas Sains dan Teknologi

Dekan



Dr. Maizer Said Nahdi, M.Si
NIP. 19550427 198403 2 001

**SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal : Surat Persetujuan Skripsi

Lamp :-

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Wahida Amalina
NIM : 10640009
Judul Skripsi : Perbandingan Struktur Anatomi Cerebellum pada Bunglon Jawa (*Bronchocela Jubata* Duméril & Bibron, 1837), Kadal (*Eutropis Multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco Volans* Linnaeus, 1758).

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Biologi.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqosyahkan. Atas perhatiannya kami ucapan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 19 Mei 2015

Pembimbing I

M. Ja'far Luthfi, Ph.D
NIP.19741026 200312 1 001

Pembimbing II

Prof. Dr. Nyoman Puniawati S.,S.U.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wahida Amalina
NIM : 10640009
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Perbandingan Struktur Anatomi *Cerebellum* pada Bunglon Jawa (*Bronchocela Jubata* Duméril & Bibron, 1837), Kadal (*Eutropis Multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco Volans* Linnaeus, 1758).

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 20 Mei 2015

yang menyatakan,



Wahida Amalina
NIM. 10640009

MOTTO

Tegas akan diri sendiri, buang pikiran negatif dan lakukan yang baik. Kegelisahan hanya milik mereka yang putus asa.

*“Beautiful is what we see. More beautiful is what we know,
but far most beautiful is what we do not know”*

(Niels Steensen)

“Whatever you are, be a good one”

(Abraham Lincoln)

*“The greatest enemy of knowledge is not ignorance, it is the illusion
of knowledge”*

(Prof. Stephen Hawking)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Penulis persembahkan karya ini kepada:

ALMAMATER TERCINTA

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA**

DAN

PECINTA ZOOLOGI

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penelitian dalam skripsi ini dapat terselesaikan. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan bagi umat islam.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana Program Studi Biologi. Penyusunan skripsi ini mendapat bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih disampaikan kepada:

1. Papa, Mama, Abangku, Adikku tercinta.
2. Ibu Dr. Maizer Said Nahdi M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Siti Aisyah M.Si., selaku ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
4. Bapak Dr. Muhammad Jafar Luthfi, Ph.D selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu memberikan bimbingan, arahan, bantuan, dan ilmu dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Prof. Nyoman Puniawati Soesilo SU selaku pembimbing yang telah memberikan waktu, arahan, ilmu, kesabarannya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Ibu Najda Rifqiyati M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan hingga skripsi ini dapat terselesaikan.

7. Bapak Luthfi Nurhidayat dan pak Wardi selaku pembimbing lapangan yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian hingga penyusunan skripsi ini hingga selesai.
8. Ganjar Pamuji yang selalu mendukung penulis hingga skripsi ini segera selesai untuk masa depan yang lebih baik.
9. Keluarga Besar IPMKRY-Kota Batam
10. Anak-anak Asrama Beirut I, II
11. Kelompok Studi ZOOLOGY UIN Sunan Kalijaga,
12. Teman-teman mahasiswa Biologi angkatan 2010 (GABINAS) Huda, Rozad, Tiya, Uci, Lana, Arin dan teman kelas lainnya yang telah memberikan warna, bantuan dan dukungan selama ini
13. Teman-teman KKN Kelompok 8 Dusun Nglengkong, Mas Indra, Mas Yuda, Mas Zul, Mas Aji, Mimin, Rina dan Iza yang telah mendukung, membantu penulis selama ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.
15. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan kesalahan. Namun demikian, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Yogyakarta, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN KEASLIAN.....	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
ABSTRAK.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Otak.....	4
B. <i>Cerebellum</i>	6
C. Reptil.....	9
D. Landasan Teori.....	15
BAB III METODE PENELITIAN.....	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian	16
B. Alat dan Bahan.....	16
C. Cara Kerja	17
D. Analisis Data.....	22

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
A. Pengamatan Struktur Morfologi.....	23
B. Pengamatan Struktur Makroskopis Otak	26
C. Pengamatan Mikroskopis <i>Cerebellum</i>	28
BAB V.....	31
A. KESIMPULAN	31
B. SARAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Morfometri Spesimen	24
Tabel 2. Ukuran Panjang Organ Otak.....	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Diferensiasi Otak.....	4
Gambar 2. Struktur Otak pada anggota Kelas Reptilia.....	5
Gambar 3. Struktur Histologi <i>Cerebellum</i> pada Manusia.....	7
Gambar 4. Morfologi <i>Bronchocela jubata</i>	11
Gambar 5. <i>Eutropis multifasciata</i> yang berada di serasah dedaunan.....	13
Gambar 6. <i>Draco volans</i> saat meluncur dari ranting pohon	15
Gambar 7. Struktur Morfologi tubuh.....	23
Gambar 8. Struktur Makroskopis Organ Otak <i>Bronchocela jubata</i> , <i>E.multifasciata</i> , dan <i>Draco volans</i>	26
Gambar 9. Struktur Histologi <i>Cerebellum</i> dengan pewarnaan HE.....	28

PERBANDINGAN STRUKTUR ANATOMI *CEREBELLUM* PADA
BUNGLON JAWA (*Bronchocela jubata* Duméril & Bibron, 1837),
KADAL (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) DAN
KLARAP (*Draco volans* Linnaeus, 1758)

Oleh: Wahida Amalina (10640009)

ABSTRAK

Setiap hewan mempunyai perilaku pergerakan berbeda sesuai habitat dan struktur tubuhnya. Anggota Subordo Lacertilia yang hidup di aboreal melakukan gerakan untuk mencari makan ataupun menghindar dari predator dengan cara melilitkan ekor di batang pohon (contoh: *Bronchocela jubata*) atau gerakan meluncur dengan bantuan pelebaran kulit di lateral tubuh (contoh: *Draco volans*) dan *Eutropis multifasciata* yang hidup di tanah melakukan gerakan menghindari predator dengan melakukan autotomi ekor. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari struktur *Cerebellum* pada 3 anggota Subordo Lacertilia yang memiliki habitat dan perilaku pergerakan yang berbeda. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap struktur makroanatomii otak dan struktur histologi *Cerebellum*. Pembuatan preparat makroanatomii otak dengan membuka cranium sedangkan preparat histologi *Cerebellum* menggunakan metode paraffin dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *Bronchocela jubata* yang ukuran tubuhnya paling besar diantara kedua hewan lainnya membutuhkan otak dan cerebellum berukuran paling besar. Struktur histologi *Cerebellum* tersusun oleh lapisan molekular, lapisan granular dan lapisan sel Purkinje. *Draco volans* memiliki jumlah sel Purkinje lebih banyak serta rasio cerebellum terhadap otak lebih besar, hal tersebut sangat membantu *Draco volans* karena untuk meluncur spesies ini membutuhkan keseimbangan yang lebih besar dibanding kedua hewan lainnya.

Kata kunci: Anatomi *Cerebellum*, *Bronchocela jubata*, *Draco volans*, Ekomorfologi, *Eutropis multifasciata*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Reptilia merupakan anggota Filum Chordata yang memiliki ciri khas pada tubuhnya yang ditutupi oleh sisik berupa zat tanduk Penyebaran spesies reptil sangat tinggi di Indonesia. Unsur biotik maupun abiotik di Indonesia sangat cocok sebagai habitat hewan-hewan reptil. Kelas Reptilia terdiri dari beberapa Subordo yang salah satunya yaitu Subordo Lacertilia (Rooij, 1915).

Anggota Subordo Lacertilia umumnya termasuk dalam kelompok hewan *pentadactylus* dan bercakar, dengan struktur sisik yang bervariasi. Subordo Lacertilia juga memiliki karakteristik yang beragam, salah satu faktor pembedanya yaitu pola pergerakan yang dapat dilihat berdasarkan perilaku dan habitatnya sehari-hari. *Bronchocela jubata* merupakan salah satu spesies anggota Subordo Lacertilia, yang memiliki pola pergerakan dengan melilitkan ekornya di batang atau ranting pohon baik pada saat mencari makan bahkan untuk menghindar dari musuh. Tidak hanya melilitkan ekor namun ada juga yang memiliki pola pergerakan dengan meluncur yaitu *Draco volans*, dan salah satu anggota Subordo Lacertilia yang hidupnya di tanah dengan gerakan berjalan ataupun berlari yaitu *Eutropis multifasciata* (Soesilo, 2009).

Proses perilaku pada mahluk hidup diatur oleh sistem saraf pusat yaitu otak. Otak merupakan sistem syaraf pusat yang berperan penting dalam mengatur sistem yang bekerja didalam tubuh termasuk dalam menerima respon dari luar maupun dari dalam tubuh (Purves *et al.*, 2001). *Cerebellum* merupakan bagian otak yang berfungsi mengatur keseimbangan serta kerja sistem otot pada kelompok hewan vertebrata (Darmanto, 2002). Penelitian tentang struktur *Cerebellum* pada otak hewan-hewan anggota Sub Ordo Lacertila masih sangat minim. Spesies *Bronchocela jubata*, *Eutropis multifaciata* dan *Draco volans* merupakan anggota Subordo Lacertilia yang memiliki pola pergerakan yang berbeda dan mudah dijumpai, sehingga perlu adanya penelitian mengenai struktur anatomi *Cerebellum* pada *Bronchocela jubata*, *Eutropis multifaciata* dan *Draco volans*.

B. Rumusan masalah

1. Bagaimanakah struktur anatomi *Cerebellum* Bunglon Jawa (*Bronchocela jubata* Duméril & Bibron, 1837), Kadal (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco volans* Linnaeus, 1758)?
2. Apakah struktur anatomi *Cerebellum* berkaitan dengan tipe pergerakan Bunglon Jawa (*Bronchocela jubata* Duméril & Bibron, 1837), Kadal (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco volans* Linnaeus, 1758)?

C. Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui struktur anatomi *Cerebellum* pada Bunglon Jawa (*Bronchocela jubata* Duméril & Bibron, 1837), Kadal (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco volans* Linnaeus, 1758).
2. Mempelajari kaitan struktur anatomi *Cerebellum* dengan habitat dan tipe lokomosi Bunglon Jawa (*Bronchocela jubata* Duméril & Bibron, 1837), Kadal (*Eutropis multifasciata* Khul, 1820) dan Klarap (*Draco volans* Linnaeus, 1758).

D. Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi ilmiah mengenai struktur anatomi *Cerebellum* anggota Sub Ordo Lacertilia, sehingga bermanfaat untuk menambah dan melengkapi khasanah ilmu. Selain itu, hasil yang diperoleh dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lain yang berkaitan dengan penelitian ini seperti kajian fisiologisnya serta konservasinya. Disamping itu dapat digunakan sebagai suatu karakter pembeda yang bermanfaat dalam identifikasi. Penelitian ini juga bermanfaat bagi masyarakat umum sebagai sumber informasi mengenai struktur anatomi *Cerebellum* dapat digunakan untuk memaparkan pergerakan anggota Sub Ordo Lacertilia pada umumnya.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Cerebellum terletak berdekatan dengan mesencephalon dan ukuran makroskopis cerebellum paling besar terdapat pada *Bronchocela jubata*. Struktur histologi cerebellum cerebellum *Bronchocela jubata*, *Eutropis multifasciata* dan *Draco volans* terdiri dari lapisan granular, lapisan molekular serta lapisan sel Purkinje. Ukuran lapisan penyusun cerebellum paling besar yaitu pada spesies *Bronchocela jubata*, sedangkan lapisan sel Purkinje paling banyak terdapat pada cerebellum spesies *Draco volans*.
2. Struktur anatomi cerebellum berkaitan dengan tipe pergerakan masing-masing spesies. Berdasarkan tipe habitat arboreal dan pergerakan meluncur, *Draco volans* memiliki rasio cerebellum terhadap otak serta jumlah sel Purkinje paling tinggi diantara kedua spesies lainnya.

B. Saran

Hasil penelitian ini memerlukan tindak lanjut berupa penelitian yang lebih spesifik untuk mengetahui histometri, histokimia serta perbedaan struktur-struktur cerebellum lainnya baik antar Kelas Reptilia maupun pada Kelas hewan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1988. *Ensiklopedia Indonesia Seri Fauna. Reptilia dan Amphibia*. Redaksi Ensiklopedia Indonesia.
- Anonim. 2010. *Ensiklopedia Dunia Hewan*. Reptil. Jakarta: PT. Lentera Abadi.
- Anonim. 2013. *The embryonic brain develops*. <http://cnx.org/content/col11496/1.6/>. 12 Maret 2015 (10:15).
- Anonim. 2015. *Bronchocela jubata*. <http://wa2010.ee.itb.ac.id/>. 14 Maret 2015 (17:10).
- Anonim. 2015. *Draco volans*. <http://www.scientificlib.com/images/images00044.html>. 21 April 2015 (20:02).
- Backer, Nick. 2015. Many-line Sun Skink, *Eutropis multifasciata*. http://www.ecologyasia.com/verts/lizards/many-lined_sun_skink.htm. 14 Maret 2015 (19:20).
- Bancroft, J. D and Cook, H.C. 1984. “*Manual of Histological techniques*”. New York: Crucrhill Livingstone
- Bahri, Saeful. 2000. “Perilaku kadal (*Mabouya multifasciata*) dalam Kandang penangkaran”. Skripsi. Tidak diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Brotowidjoyo, M.D. 1995. *Zoologi Dasar*. Jakarta: Erlangga
- Chizhikov V. and K.J, Millen. 2003. Development and malformations of the cerebellum in mice. *Mol, Gen, Met.* 80:54-65.
- Darmanto, W. E. 2002. Apoptosis pada sel granulose cerebellum tikus akibat radiasi sinar-X: deteksi apoptosis dengan metode TACS™ in situ apoptosis detection kit. *J. MIPA.*7(3): 133-140.
- Disbrey, B.D., Rack, J. H. 1970. *Histological Laboratory Methods*. E. & S. Livingstone. Edinburg.
- Grzimek, B. 1972. “*Animal Life Encyclopedia*”. Vol 6. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Guyton, A.C and J.E Hall. 2005. *Textbook of Medical Physiology* 12th Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.

- Junquiera, L.C. 2005. *Basic Histology*. 11th edition. Washington: Lange
- Kardong, K. V. 2002. *Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution* 3rd edition. New York: Inc. McGraw – Hill Companies
- Kent, G. C. and Miller, L. 1997. *Comparative Anatomy of The Vertebrates* 8th edition. New York, USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Kimball, J.W. 1983. *Biologi*. Edisi kelima. Jakarta: Erlangga
- Mardjono M and P. Sidharta. 1981. *Neurologi Klinis Dasar*. Jakarta: PT. Dian Rakyat.
- McGuire and Jimmy, A. 2001. Phylogenetic systematic of Southeast Asian flying lizards (Iguania: Agamidae: Draco) as inferred from mitochondrial DNA sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society*, 72: 203-229.
- Nieuwenhuys, R.H.J. Ten Donkelaar and C. Nicholson. 1998. The Central Nervous System of Vertebrates. Vol. 2. Verlag Berlin: Springer.
- Pal, B., Chowdhury, S., *Ghost,R.K. 2003. “Comparative Anatomical Study of The Cerebellum of Man and Fowl”. *J Anat. India. Soc.* 52(1) 32-37.
- Purves, D., G.J. Augustine, D. Fitzpatrick, L.C. Katz, A.S. Lamantia, J.O. McNamara and S.M. William. 2001. *Neuroscience* 2th ed. Massachusetts. Sinauer Associates Inc.
- Rooij, Nelly, De. 1915. *The Reptiles of The Indo-Australian Archipelago*. Leiden: E. J. BRILL Ltd.
- Scanlon, S.C. and T, Sanders. 2007. *Essentials of Anatomy and Physiology* 5th edition. Philadelphia: F.A. Davis Company.
- Siler, C.D., J.C. Swab, C.H. Oliveros, A.C. Diesmos, L. Averia, A.C. Alcala and R.M. Brown. 2012. Amphibians and Reptiles, Romblon Island Group, central Philippines: Comprehensive herpetofaunal inventory. *Check List* 8(3): 443-462.
- Sukardi, E. 1984. *Neuroanatomia Medica*. Jakarta. UI-Press.
- Soesilo, N. P. 1992. Proses Regenerat Ekor Kadal (*Mabouya multifasciata* Kuhl). *Biologi* Vol.1 No.4. Hal 169-175.

- Soesilo, N. P. 2009. Regenerasi Ekor Kadal (*Eutropis multifasciata* Kuhl) dan Prospek Aplikasinya. Yogyakarta: UGM.
- Sur, E., O. Oznurlu, Y., Ozaydin, O., Colakoglu, F., Unsal, S., and Yener, Y. 2011. “Comparative Histometrical Study of The Cerebellum and The Determination of Some AgNOR Parameters in Different Avian Spesies”. *Bull Vet Inst Pulawy* 55, 261-265.
- Zug, G.R, Vitt, L.J., and Caldwell, J.P.2001. *Herpetology; an introductory biology of amphibians and reptiles*. California: Academic Press.

LAMPIRAN 1. Pembuatan Preparat Metode Parafin

Sampel otak yang telah dieuthanasi, dipotong dan difiksasi, segera diproses dengan metode parafin untuk dibuat preparat cerebellum. Pembuatan preparat cerebellum dengan metode parafin dilakukan melalui beberapa langkah sebagai berikut.

1. Fiksasi menggunakan larutan formalin buffer netral 10% selama 3x24 jam
2. *Washing* menggunakan alkohol 70% selama 30 menit (4x), bertujuan untuk menghilangkan fiksatif yang menempel pada organ.
3. Dehidrasi untuk menghilangkan molekul air dari organ dan mengganti dengan alkohol. Dehidrasi dilakukan dengan menggunakan alkohol bertingkat:
 - a. alkohol 70% selama 4x30menit
 - b. alkohol 80% selama 2x30menit
 - c. alkohol 90% selama 2x30menit
 - d. alkohol 96% selama 1x30menit
4. *Clearing* menggunakan toluol selama 12 jam (*overnight*), bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari dalam organ, sehingga parafin dapat masuk ke dalam organ dengan baik.
5. Infiltrasi parafin cair untuk memasukkan parafin ke dalam jaringan agar jaringan yang akan dipotong memiliki konsistensi. Infiltrasi parafin dilakukan di dalam oven dengan suhu 56-60°C.
 - a. Toluol : Parafin (1:1) selama 50 menit
 - b. Parafin I selama 50 menit

- c. Parafin II selama 50 menit
 - d. Parafin III selama 50 menit
6. Embedding atau penanaman organ ke dalam parafin. Pada penelitian ini dilakukan penanaman cerebellum dengan posisi berbaring. Untuk membuat preparat potongan melintang.
 7. Blok parafin yang sudah membeku kemudian ditempelkan pada holder dan dibentuk trapesium.
 8. *Sectioning* atau pemotongan blok parafin dengan ketebalan 4 μm menggunakan pisau *microtom* dan *rotary microtom*.
 9. *Affixing* atau penempelan coupes/pita pada kaca benda dengan menggunakan air dan Meyer's albumin. Setelah itu, preparat dikeringkan di hotplate dengan suhu $\pm 42^\circ\text{C}$.
 10. *Staining* atau pewarnaan preparat menggunakan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE).
 11. *Mounting* atau menutup preparat dengan kaca penutup menggunakan Entellan.

(Bancroft and Cook, 1984)

LAMPIRAN 2. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)

Preparat cerebellum yang telah melewati proses *affixing* kemudian diwarnai (staining) dengan menggunakan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin dilakukan melalui beberapa langkah sebagai berikut.

1. Deparafinasi menggunakan xilol I minimal selama 15 menit kemudian dilap menggunakan tissue. Deparafinasi bertujuan untuk menghilangkan sisa parafin pada preparat yang akan diwarnai.
2. Preparat dibawa ke suasana akuosa menggunakan alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30% dan akuades.
3. Dicelupkan ke dalam larutan Hematoxylin selama 1-2 menit.
4. Didiamkan dalam air mengalir selama 15 menit
5. Dibawa ke suasana alkoholik menggunakan akuades, alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%.
6. Dicelupkan ke dalam larutan Eosin selama 40 detik.
7. Dicelupkan 2 kali ke dalam alkohol asam untuk mendiferensiasi dan mengintensifkan warna eosin.
8. Dibawa kembali ke keadaan alkoholik menggunakan alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96%.
9. Dimasukkan ke dalam xylol II selama 20 menit.

(Disbrey and Rack, 1970)



