

Efektifitas Minyak Kenanga (*Cananga Odorata*) sebagai Agen Deparafinisasi pada Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

*The Effectiveness of Ylang Ylang Oil (*Cananga Odorata*) as a Deparaffinizing Agent in Hematoxylin-Eosin Staining*

GELA SETYA AYU PUTRI
DINA DIYANAH
ARYA ISWARA

*D4 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang
Jl. Kedungmundu No.18, Kedungmundu, Kota Semarang, Jawa Tengah 50273
Email: gela@unimus.ac.id*

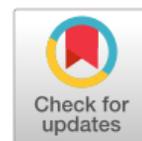
Abstrak

Pewarnaan histologi umumnya membutuhkan deparafinisasi sebelum dimulai tahap pewarnaan. Deparafinisasi merupakan tahap penghilangan parafin yang umumnya menggunakan larutan xylol. Deparafinisasi menggunakan xylol memiliki kekurangan diantaranya bersifat toksik, berbahaya bagi tubuh manusia dan tidak ramah lingkungan. Diperlukan bahan alternatif pengganti xylol yang lebih aman. *β-caryo-phyllene* dalam minyak kenanga menyebabkan minyak kenanga bersifat non-polar sehingga dapat digunakan sebagai pengganti xylol. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas pewarnaan sediaan jaringan hati marmut menggunakan xylol dan minyak kenanga (*Cananga odorata*) dengan atau tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksilin-eosin (HE). Penelitian menggunakan metode eksperimen kuasi dengan sampel sediaan jaringan hati marmut. Besar sampel dihitung dengan rumus Federer $(n-1)(t-1) \geq 15$ didapatkan total sampel 27 preparat yang terbagi dalam 3 kelompok perlakuan yaitu xylol, minyak kenanga dengan dan tanpa pemanasan. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil kualitas pewarnaan preparat hati marmut yang dideparafinisasi dengan xylol didapatkan hasil 100% baik dan deparafinisasi minyak kenanga dengan pemanasan didapatkan hasil 100% baik sedangkan pada deparafinisasi dengan minyak kenanga tanpa pemanasan didapatkan hasil 11,1% kurang baik dan kualitas baik dengan presentase 88,9%. Uji normalitas didapatkan data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), data dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis diperoleh hasil tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap penggunaan xylol dan minyak kenanga dengan dan tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi ($p > 0,05$). Kesimpulan minyak kenanga efektif untuk digunakan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan HE.

Kata Kunci: Minyak Kenanga ; Deparafinisasi ; Pewarnaan HE

Abstract

Histological staining usually requires deparaffinization before starting the staining process. Deparaffinization is a paraffin removal step that often uses a xylol solution. Deparaffinization with xylol has disadvantages, including being toxic, harmful to the human body, and hazardous to the environment. A safer alternative to xylol is required. Ylang-ylang oil, which contains β -caryophyllene, is non-polar and can be used as a substitute for xylol. This study aimed to compare the staining quality of guinea pig liver tissue slides with and without heating as a deparaffinization agent in hematoxylin-eosin (HE) staining. The research set up a quasi-experimental approach using samples of guinea pig liver tissue slides. The sample size was calculated using the Federer formula $(n-1)(t-1) \geq 15$, resulting in a total sample of 27 slides divided into three treatment groups: xylol, ylang-ylang oil with and without heating. The Kruskal-Wallis test was used to examine the data. The quality staining of guinea pig liver slides deparaffinized with xylol was 100% good, and deparaffinization of ylang-ylang oil with



heating was 100% good, whereas deparaffinization with ylang-ylang oil without heating was 11.1% less good, and the quality was good with an 88.9%. The normality test indicated that the data were not normally distributed ($p < 0.05$). The Kruskal-Wallis test was then used.

Keyword: Kenanga Oil ; Deparaffinization ; HE Staining

1. Pendahuluan

Histoteknologi merupakan teknik pembuatan sediaan histologi dengan sampel tertentu melalui serangkaian proses hingga menjadi sediaan yang dapat diamati atau dianalisis. Pemeriksaan histopatologi adalah pemeriksaan pada morfologi sel atau jaringan secara mikroskopis dengan menggunakan pengecatan rutin Hematoksilin-Eosin (HE) (Sari dan Hariyanto, 2019).

Hematoksilin-Eosin adalah teknik pengecatan yang sering dilakukan untuk mewarnai jaringan (Rina, 2013; Chan, 2014). Pengecatan sediaan jaringan yang dibuat melalui metode parafin blok harus melalui perlakuan awal khusus sebelum dimulai langkah pengecatan. Hal tersebut dikarenakan adanya senyawa parafin dalam jaringan sehingga zat pewarna tidak mampu terserap dan masuk ke jaringan. Perlakuan awal khusus dimaksud adalah proses penghilangan parafin atau deparafinisasi (Marinho dan Hanscheid, 2023).

Deparafinisasi adalah suatu proses yang dilakukan sebelum proses pengecatan (*staining*) bertujuan untuk melarutkan atau menghilangkan zat parafin sehingga jaringan mampu menyerap warna dari zat pewarna secara maksimal. Senyawa parafin merupakan campuran dari hidrokarbon yang bersifat hisrofobik atau tidak mudah larut dalam air. Senyawa parafin yang berupa lemak dapat dilarutkan menggunakan xylene atau xylol (Pratiwi dan Armalina, 2021).

Xylol merupakan larutan yang umum digunakan pada tahap deparafinisasi. Menurut Badjuri *et al* (2023) xylol mempunyai kelebihan yaitu dapat bekerja secara cepat untuk membuat jaringan menjadi jernih. Xylol atau xylene termasuk dalam golongan hidrokarbon aromatik yang banyak dimanfaatkan sebagai solvent atau pelarut. Xylol atau xylene yang merupakan turunan benzene mempunyai bentuk cair, tidak berwarna, dan dibuat minyak bumi atau aspal cair (Cahyana, 2017). Disamping kelebihanannya, xylol atau xylene juga mempunyai beberapa kekurangan antara lain, tidak aman bagi tubuh karena bersifat karsinogenik, mudah terbakar, membahayakan lingkungan, dan mengakibatkan jaringan mengkerut bila direndam dalam waktu yang lama. Diperlukan bahan alternatif pengganti xylol atau xylene yang tentunya lebih aman untuk tubuh dan lingkungan (Prema *et al.*, 2020). Bahan alternatif harus memiliki sifat non-polar sehingga dapat menghilangkan sisa parafin (Pratiwi dan Armalina, 2021). Salah satu alternatif yang dapat dilakukan yaitu mengganti xylol dengan bahan alami seperti minyak kelapa murni, minyak kelapa sawit, minyak zaitun dan minyak bunga kenanga.

Beberapa peneliti sebelumnya telah mengeksplorasi bahan alami alternatif sebagai pengganti xylol, seperti Pratiwi dan Armalina (2021) yang menggunakan minyak zaitun didapatkan sekitar 87% preparat dengan kualitas baik. Badjuri *et al* (2023) menggunakan minyak kelapa murni melaporkan bahwa penggunaan minyak kelapa murni dengan pemanasan 50°C selama 10 menit menghasilkan preparat yang baik. Penelitian oleh Udonkang *et al* (2014), melaporkan bahwa xylol atau xylene dapat disubstitusikan dengan minyak kelapa sawit yang dipanaskan sampai suhu 50°C karena minyak kelapa memiliki sifat tidak larut dalam air atau nonpolar. Pemanasan dengan suhu tersebut merupakan suhu leleh parafin sehingga waktu deparafinisasi dapat menjadi lebih cepat. Salah satu sifat dari parafin adalah hidrofobik (tidak larut dalam air) sehingga parafin hanya dapat larut menggunakan larutan yang bersifat non-polar. Minyak kenanga diketahui memiliki sifat yang sama dengan minyak kelapa sawit sehingga dapat digunakan sebagai pengganti xylol karena memiliki sifat nonpolar (Patandung, 2019).

Bunga kenanga (*Cananga odorata*) adalah contoh dari jenis tanaman yang dapat menghasilkan minyak atsiri (Anggia *et al.*, 2018). Minyak atsiri pada masa kini semakin menjadi perhatian karena beberapa kelebihanannya, diantaranya mempunyai sifat yang aman,

banyak manfaat, dan mudah didapatkan (Pujiarti *et al.*, 2015). Minyak atsiri atau essential oils, merupakan minyak alami atau ekstrak dari dalam bagian tumbuhan seperti bunga, kayu, daun, putik bunga, dan biji-bijian. Minyak atsiri mempunyai beberapa jenis kandungan kimia organik, seperti alkohol, ester, hidrokarbon, aldehida dan oksida, dan eter (Dhiwi *et al.*, 2016).

Minyak kenanga tersusun atas beberapa komponen utama yaitu β -caryo-phyllene (36,44%), senyawa dominan lainnya benzyl acetate, (E,E)-Farnesene, δ -cadinene, p- linalool, methylanisole, methyl benzo-ate, geranyl acetat, benzyl benzoate (Tan *et al.*, 2015). Terdapat senyawa β -caryo-phyllene dalam minyak kenanga menyebabkan minyak kenanga bersifat non-polar (Andila *et al.*, 2020). Sifat minyak kenanga yang non-polar menjadikan minyak kenanga berpotensi menggantikan peran xylol dalam proses deparafinisasi pewarnaan HE.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang efektifitas minyak kenanga (*Cananga odorata*) dengan tujuan untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas pewarnaan sediaan jaringan hati marmut menggunakan xylol dan minyak kenanga (*Cananga odorata*) dengan atau tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksilin-eosin (HE).

2. Metode

Alat dan bahan yang digunakan antara lain pisau bedah, pinset, kaset pengolahan jaringan, tissue processor, mikrotom, waterbath, kaca objek, deck glass dan mikroskop. Sampel hati marmut, NBF 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95% dan alkohol absolut), lilin parafin, xylol, minyak kenanga alami, cat hematoksilin, cat eosin, dan entelan.

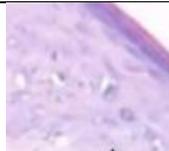
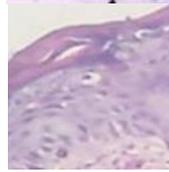
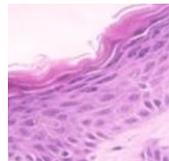
Penelitian yang digunakan bersifat eksperimental dengan desain eksperimen kuasi. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus-Oktober 2023 di Laboratorium Sitohistoteknologi Unimus dan Laboratorium Hewan Kota Semarang. Sampel yang digunakan adalah jaringan hati marmut yang dilakukan tahap deparafinisasi menggunakan minyak kenanga dengan dan tanpa pemanasan sebanyak 27 preparat jaringan. Organ hati dipilih karena merupakan kelenjar terbesar dan memiliki konsistensi yang tepat (tidak terlalu padat atau lunak). Besar sampel didapatkan dari rumus federer $(n-1)(t-1) \geq 15$. Sampel terbagi menjadi tiga kelompok dari masing-masing perlakuan. Pembagian kelompok disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembagian kelompok eksperimen

Kelompok	Perlakuan	Jumlah sampel
K (xylol)	Dicelupkan pada xylol I, II, III masing-masing selama 5 menit.	9
A (minyak kenanga dengan pemanasan)	Dicelupkan pada minyak kenanga yang dipanaskan pada suhu 50°C I, II, III masing-masing selama 5 menit.	9
B (minyak kenanga tanpa pemanasan)	Dicelupkan pada minyak kenanga tanpa pemanasan I, II, III masing-masing selama 5 menit.	9
Jumlah		27

Masing-masing sampel selanjutnya dilakukan pewarnaan HE untuk selanjutnya diamati kualitas hasil pewarnaannya di bawah mikroskop dengan sistem skoring menurut Tabel 2. Data hasil penelitian dianalisis dengan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) yaitu uji normalitas dengan Saphiro wilk, jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji Oneway Anova, namun jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dilakukan uji Kruskall-Wallis untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok.

Tabel 2. Kriteria Penilaian Mikroskopis Kualitas Pewarnaan Jaringan.

No	Deskripsi	Kualitas		Gambar
		Skala Ordinal	Skor	
1	Warna biru inti sel tidak jelas, warna merah sitoplasma tidak jelas, warna preparat tidak seragam.	Tidak baik	1	
2	Warna biru inti sel kurang jelas, warna merah sitoplasma kurang jelas, warna preparat kurang seragam.	Kurang baik	2	
3	Warna biru inti sel jelas, warna merah sitoplasma jelas, warna preparat seragam.	Baik	3	

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil

Pengamatan hasil penelitian dilakukan di laboratorium Sitohistoteknologi Unimus untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas pewarnaan sediaan jaringan hati marmut menggunakan xylol dan minyak kenanga (*Cananga odorata*) dengan atau tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksilin-eosin. Hasil pengamatan mikroskopis pada jaringan hati marmut yang melalui proses deparafinisasi menggunakan xylol dan minyak kenanga dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan mikroskopis tiap sampel

Kelompok	Kode sampel	Gambaran Mikroskopis			Hasil rata-rata	Keterangan
		Inti Sel	Sitoplasma	Keseragaman warna		
Xylol (Kontrol)	K1-K3	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	K4-K6	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	K7-K9	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
Minyak Kenanga Tanpa Pemanasan	A1-A4	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	A5-A8	2,0	3,0	3,0	2,67	Baik
	A9	2,0	2,0	3,0	2,33	Kurang Baik
Minyak Kenanga + Pemanasan 50°C	B1-B3	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	B4-X6	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	X7-X9	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik

Tabel 4. Kualitas sediaan preparat kelompok

Gambaran Mikroskopis	Deparafinisasi		
	Xylol (Kontrol)	Minyak Kenanga Tanpa Pemanasan	Minyak Kenanga Dengan Pemanasan 50°C
Tidak Baik	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Kurang Baik	0 (0%)	1 (11,1%)	0 (0%)
Baik	9 (100%)	8 (88,9%)	9 (100%)
Jumlah Preparat	9	9	9

Berdasarkan Tabel 3 dan 4 diperoleh kualitas hasil pewarnaan yang baik pada semua preparat (100%) yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak kenanga dengan pemanasan. Selanjutnya kelompok deparafinisasi dengan minyak kenanga tanpa pemanasan didapatkan hasil kurang baik sebanyak 1 (11,1%) dan kualitas baik sebanyak 8 (88,9%). Deparafinisasi menggunakan minyak kenanga yang dipanaskan pada suhu 50°C menghasilkan intensitas warna inti sel dan sitoplasma yang baik seperti pada jaringan yang diproses menggunakan larutan xylol. Penelitian ini juga menunjukkan adanya keseragaman warna sediaan yang sama dengan xylol.

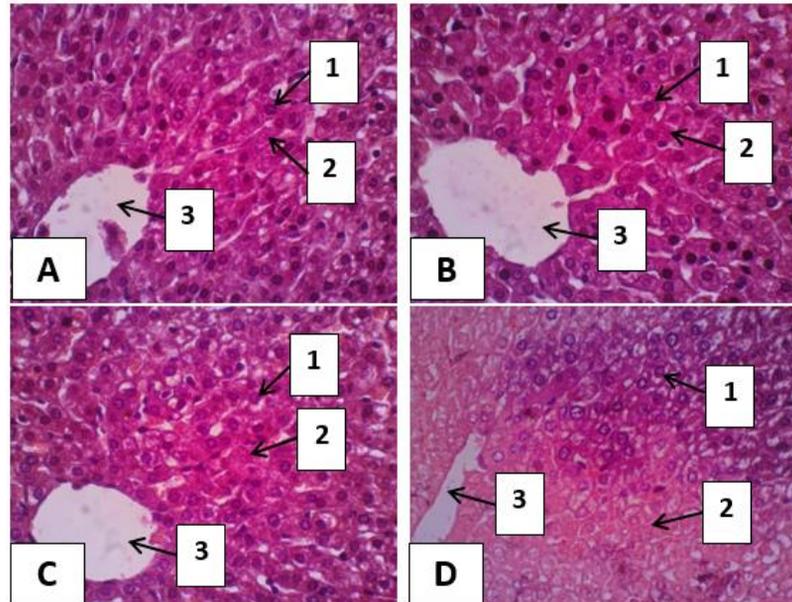
Kualitas pewarnaan preparat jaringan hati marmut menggunakan larutan xylol mendapatkan hasil yang baik dengan inti sel, sitoplasma dan keseragaman warna yang terlihat jelas. Hal ini dikarenakan xylol atau xylene mempunyai beberapa keunggulan, yaitu pelarut organik yang dan peluntur lilin parafin yang baik (Kandyala *et al.*, 2010). Menurut Hernandes *et al* (2017) xylol atau xylene merupakan senyawa kimia yang sering digunakan untuk proses deparafinisasi di laboratorium histologi rutin. Xylol atau xylene memiliki tingkat kelarutan yang tinggi terhadap senyawa parafin dan zat dehidran sehingga hasil kualitas pewarnaan secara mikroskopis menggunakan xylol didapatkan skor 100% baik.

Hasil kualitas pewarnaan sediaan jaringan yang baik pada penelitian ini dipengaruhi oleh minyak kenanga yang memiliki sifat non-polar sehingga dapat menghilangkan sisa parafin dengan cara melarutkan lemak pada di dalam jaringan. Minyak kenanga terdapat kandungan β -caryo-phyllene yang menyebabkan minyak kenanga bersifat non-polar sehingga sisa-sisa lilin parafin dapat luntur (Borgonetti, 2022). Hal ini didukung dengan pernyataan Kristian (2018) yaitu sifat non-polar pada minyak dapat menghilangkan zat-zat parafin pada jaringan.

Terdapat satu sampel yang mendapatkan hasil kurang baik, menurut Pratiwi & Armalina (2021) preparat yang kurang baik adalah preparat yang inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warnanya kurang jelas. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh beberapa hal seperti ketebalan jaringan, pemilihan suhu, kesesuaian prosedur, pemilihan jenis larutan yang digunakan, dan waktu perendaman jaringan (Mayangsari, 2019). Dalam penelitian ini faktor yang memengaruhi adalah ketebalan jaringan yang kurang seragam akibat kurang konsisten dalam pemotongan.

Gambaran mikroskopis preparat jaringan marmut dengan pewarnaan HE pada kelompok minyak kenanga dengan pemanasan 50°C maupun tanpa pemanasan menunjukkan hasil yang sama dengan kelompok kontrol yang menggunakan xylol. Hasil ini juga didukung dengan hasil analisis statistik uji *Kruskal-wallis* yang mendapatkan hasil signifikansi 0,368 (p -value >0,05) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan *xylol*, minyak kenanga dengan dan tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksilin-eosin.

Gambar 1. Gambaran mikroskopis preparat hati marmut dengan HE.



Keterangan: A. deparafinisasi xylol (skor 3): warna biru inti sel jelas, warna merah sitoplasma jelas, warna preparat seragam; B. minyak kenanga dengan pemanasan 50°C (skor 3): warna merah sitoplasma jelas, warna preparat seragam; C. minyak kenanga tanpa pemanasan (skor 3): warna merah sitoplasma jelas, warna preparat seragam; D. minyak kenanga tanpa pemanasan (skor 2): warna biru inti sel kurang jelas, warna merah sitoplasma kurang jelas, warna preparat kurang seragam. (1) Inti Sel; (2) Sitoplasma; (3) Vena Sentralis

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan xylol dan minyak kenanga dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksin-eosin. Hal tersebut mengindikasikan minyak kenanga dapat digunakan sebagai alternatif xylol atau xylene pada proses deparafinisasi dengan pengecatan hematoksin-eosin. Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya, salah satunya oleh Damayanti *et al* (2021) yang melaporkan penggunaan mineral oil dapat dijadikan sebagai pengganti xylol dengan pemanasan 50°C yang menghasilkan 100% preparat dengan kualitas baik. Selanjutnya penelitian oleh Nuroini *et al* (2019) yang menggunakan minyak zaitun dengan pemanasan 60°C sebagai alternatif pengganti xylol, minyak zaitun menunjukkan kualitas preparat yang sama pada bagian inti, sitoplasma, dan glomerulus. Minyak zaitun mengandung asam oleat yang bersifat sama dengan eosin sehingga sitoplasma mampu terwarnai dengan baik. Asam oleat mempunyai kandungan lipid tak jenuh yang mempunyai sifat non polar sehingga akan melunturkan lilin parafin pada preparat jaringan.

Penelitian oleh Swamy (2015) juga melaporkan bahwa xylol dapat digantikan dengan menggunakan minyak atsiri yang dipanaskan pada suhu 60°C. Pemanasan dilakukan untuk menghilangkan sisa parafin yang ada pada jaringan selama proses deparafinisasi. Peningkatan suhu pada minyak atsiri memudahkan parafin maupun lemak luntur. Meningkatnya suhu menyebabkan laju difusi molekul minyak juga meningkat sehingga mengurangi viskositas cairan. Hasilnya parafin dapat lebih cepat luntur dan hilang. Perbedaan hasil penelitian ini dengan beberapa penelitian sebelumnya adalah penggunaan minyak alami pada penelitian sebelumnya efektif dengan pemanasan tetapi pada penelitian ini penggunaan minyak kenanga sebagai pengganti juga efektif tanpa pemanasan.

Minyak kenanga dapat digunakan sebagai alternatif xylol dengan keunggulan yaitu praktis karena efektif digunakan tanpa pemanasan dan relatif lebih aman digunakan dalam jangka panjang karena tidak mengandung bahan kimia berbahaya yang dapat menyebabkan efek

toksik. Keterbatasan pada penelitian adalah terdapat ketebalan jaringan yang kurang seragam karena tidak konsisten dalam pemotongan di mikrotom.

4. Simpulan dan Saran

Simpulan

Beberapa hasil yang diperoleh dari penelitian yaitu kelompok xylol dan minyak kenanga dengan pemanasan didapatkan hasil kualitas pewarnaan yang baik pada semua sediaan (100%). Kelompok deparafinisasi dengan minyak kenanga tanpa pemanasan didapatkan kualitas pewarnaan kurang baik sebanyak 1 sediaan (11,1%) dan kualitas pewarnaan baik sebanyak 8 sediaan (88,9%). Tidak terdapat perbedaan kualitas hasil pewarnaan xylol dan minyak kenanga dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan ($p>0,05$) sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksilin-eosin sehingga dapat disimpulkan minyak kenanga efektif digunakan sebagai agen alternatif deparafinisasi pada pewarnaan Hematoksilin-eosin.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan penggunaan minyak kenanga direkomendasikan sebagai alternatif xylol yang lebih aman bagi tenaga kesehatan.

5. Daftar Pustaka

- Andila, P. S., Wibawa, I. P. A., Warseno, T., Li'aini, A. S., Tirta, I. G., Bangun, T. M. (2020). Seri Koleksi Kebun Raya Eka Karya Bali: *Tanaman Berpotensi Penghasil Minyak Atsiri*. Jakarta: LIPI Press. DOI: <https://doi.org/10.14203/press.311>
- Anggia, M., Mutiar, S., Arziah, D. (2018). *Teknologi Ekstraksi Bunga Kenanga (Cananga Odorata L.) dan Sereh Wangi (Cymbopogon Nardus L.) Sebagai Aroma Terapi Sabun Cair*. Jurnal Daur Lingkungan, 1(1): 5-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.33087/daurling.v1i1.2>
- Badjuri, F. Z., Durachim, A., Wiryanti, W., Riyani, A., Dani, M. (2023). *Pengaruh Variasi Suhu Dan Waktu Virgin Coconut Oil Pada Proses Deparafinisasi Pewarnaan Hematoksilin Eosin Terhadap Kualitas Preparat*. Jurnal Kesehatan Siliwangi. 4(1):172-181. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1473>
- Borgonetti, V., López, V., Galeotti, N. (2022). Ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson) essential oil reduced neuropathic-pain and associated anxiety symptoms in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 294: 115362. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115362>
- Cahyana, G.H., Sukrisna, A., Mulyani, T. (2017). *Hubungan Paparan Xylene Dan Methyl Hippuric Acid Pada Pekerja Informal Pengecatan Mobil Di Karasak, Bandung*. Creative Research Journal. 1(01): 79- 94. <https://doi.org/10.31219/osf.io/qa5bu>
- Chan, J.K. (2014). *The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology*. Int J Surg Pathol. 22(1):12-32. <https://doi.10.1177/1066896913517939>.
- Damayanti, M., Ariyadi, T., Tyas, R. A. (2021). *Proses Deparafinisasi sediaan jaringan ginjal dengan dan tanpa pemanasan menggunakan mineral oil pada pewarnaan hematoksilin-eosin*. Jurnal Kesehatan Rajawali 11(2): 1-6. DOI: <https://doi.org/10.54350/jkr.v11i2.104>
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W. (2016). *Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review*. Medicines (Basel, Switzerland). 3(4) 25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- Hernandes, E. P., Schoffen, R. P. Conte, H., (2017). *Xylene: Features, Risks and Management of Waste*. Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research, 17(2): 68-73. <http://www.mastereditora.com.br/bjscr>
- Kandyala, R., Raghavendra, S. P., Rajasekharan, S. T. (2010). *Xylene: An overview of its health hazards and preventive measures*. Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP, 14(1), 1–5. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.64299>

- Kristian, E. (2018). *Potensi Minyak Gandapura sebagai Pengganti Xilol dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit*. Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Penelitian & Pengabdian Masyarakat Dies Natalis ke-16 STIKES Jenderal Achmad Yani Cimahi Pinlitas. 11(1): 638-644. <https://repository2.stikesayani.ac.id/>
- Marinho, P.F., Hanscheid, T. (2023). *A simple heat-based alternative method for deparaffinization of histological sections significantly improves acid-fast staining results for Mycobacteria in tissue*. *MethodsX*. 12;10:102079. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102079>.
- Mayangsari, M. A. Nuroini, F., Ariyadi, T. (2019). *Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan HE*. *Jurnal Nasional Unimus*, 190- 193. <http://prosiding.unimus.ac.id>
- Nuroini, F. Erwin, Y. Ariyadi, T. (2019). *Proses Deparafinasi Sediaan Jaringan Ginjal Dengan Dan Tanpa Pemanasan Menggunakan Mineral Oil Pada Pewarnaan Hematoksilin-Eosin*. *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*. 2(2019):185-189 <http://prosiding.unimus.ac.id>
- Patandung, P. (2019). *Pengaruh Suhu Parafin Cair Terhadap Waktu Penyimpanan Rimpang Jahe*. *Jurnal Penelitian Teknologi Industri*. 10(2);45. <https://doi.org/10.33749/jpti.v10i2.4650>
- Pratiwi, E. N., Armalina, D. (2021). *Mikroskopis Preparat Mus Musculus Jaringan Ginjal Yang Dideparafinisasi Dengan Minyak Zaitun Pada Pengecatan Hematoxylin Eosin (HE)*. *Jurnal Laboratorium Medis*. 3(1): 61-66. <https://doi.org/10.31983/jlm.v3i1.8005>
- Prema, V., Prasad, H., Srichinthu, K. K., Kumar, S. S., Rajkumar, K., & Marudhamani, C. (2020). *Biofriendly Substitutes for Xylene in Deparaffinization*. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 12(Suppl 1), S623-S630. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_164_20
- Pujiarti, R., Widowati, T. B., Kasmudjo., Sunarta, S. (2015). *Kualitas, Komposisi Kimia, dan Aktivitas Antioksidan Minyak Kenanga*. *Jurnal Ilmu Kehutanan* 9(1): 3-11. <https://doi.org/10.22146/jik.10179>
- Rina, S. (2013). *Petunjuk Praktikum Mikroteknik. Bagian Histologi dan Biologi Sel*. Yogyakarta: FK UGM. <https://jurnal.ugm.ac.id/jpki/article/download/25322/16224>
- Sari, Y. E. S., Hariyanto. (2019). *Rendaman Kuncup Daun Jati (Tectona grandis) sebagai Alternative Pewarna Eosin pada Proses Histoteknik*. *Prosiding Senakes 1.0*. STIKES Rumah Sakit Anwar Medika: 76-80. <https://repository.um-surabaya.ac.id/>
- Swamy, S. R., Nandan, S. R., Kulkarni, P. G., Rao, T. M., Palakurthy, P. (2015). *Bio-Friendly Alternatives for Xylene - Carrot oil, Olive oil, Pine oil, Rose oil*. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 9(11). ZC16-ZC18. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/16384.6731>
- Tan, L. T., Lee, L. H., Yin, W. F., Chan, C. K., Abdul Kadir, H., Chan, K. G., Goh, B. H. (2015). *Traditional Uses, Phytochemistry, and Bioactivities of Cananga odorata (Ylang-Ylang)*. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*. 2015:896314. <https://doi.org/10.1155/2015/896314>
- Udonkang, M., Eluwa, M., Ekanem, A., Sharma, T. B., Asuquo, O. R., Akpantah, A. O. (2014). *Bleached palm oil as substitute for xylene in histology*. *J Pharm Clin Res*. 8:8-17. www.arpapress.com/Volumes/JPCS/Vol8/JPCS_8_02.pdf