

Penggunaan Minyak Kelapa Mandar sebagai Agen Alternatif Deparafinisasi pada Pewarnaan Rutin Hematoksilin-Eosin

The Usage of Mandar Coconut Oil as an Alternative Deparaffinization Agent in Routine Staining Hematoxylin-Eosin

**GELA SETYA AYU PUTRI
NURUL FHATIAH ZALZABILLAH**

Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

Jl. Kedungmundu No.18, Kedungmundu, Kec. Tembalang, Kota Semarang

Email: gela@unimus.ac.id

Abstrak

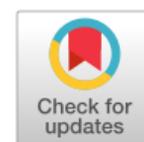
Proses deparafinisasi merupakan tahapan yang penting dalam pewarnaan preparat jaringan hematoksilin-eosin. Xylol menjadi salah satu pelarut organik yang umum digunakan sebagai agen deparafinisasi, namun memiliki banyak efek toksik. Diperlukan alternatif agen deparafinisasi yang lebih aman untuk lingkungan dan manusia, salah satunya minyak kelapa tradisional mandar (MTM). Kandungan asam laurat dalam MTM bersifat non-polar sehingga mampu melarutkan parafin. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas hasil pewarnaan preparat hepar mencit pada proses deparafinisasi menggunakan xylol dan MTM dengan pewarnaan Hematoksilin-eosin (HE). Penelitian dengan desain ekperimental menggunakan sampel preparat jaringan hepar mencit sebanyak 40 preparat, yang terbagi menjadi dua kelompok perlakuan. Data penilaian kualitas hasil pewarnaan jaringan berdasarkan warna inti, sitoplasma, dan keseragaman warna dianalisis dengan uji Man-whitney. Hasil kualitas pewarnaan preparat hepar mencit kelompok xylol dan MTM didapatkan hasil 100% kualitas baik (skor 3). Uji Man-whitney didapatkan tidak terdapat perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan kelompok xylol dan MTM ($p>0,05$). Kesimpulan dari penelitian adalah minyak tradisional kelapa mandar (MTM) efektif untuk digunakan sebagai alternatif agen deparafinisasi pada pewarnaan HE.

Kata Kunci: Deparafinisasi ; Minyak Kelapa Mandar ; Xylol

Abstract

The deparaffinization technique is critical in hematoxylin-eosin staining tissue slides. Xylol is an organic solvent that is frequently used as a deparaffinization agent, however, it has several hazardous effects. Alternative deparaffinization agents that are safer for the environment and humans are required, one of which is traditional mandar coconut oil (MTM). Lauric acid in MTM is non-polar, hence it can dissolve paraffin. The study aimed to evaluate the quality of staining results in mouse liver slide during the deparaffinization process using xylol and MTM with Hematoxylin-eosin (HE) staining. This study is an experimental design that uses 40 samples of mouse liver tissue slides, which were divided into two treatment groups. The Man-Whitney test was used to analyze data on the quality of tissue staining results based on nucleus, cytoplasm, and color homogeneity. The results of the staining quality of the mouse liver slide in the xylol and MTM groups obtained 100% good (score 3). The conclusion in this study is traditional mandar coconut oil (MTM) is effective for use as an alternative deparaffinization agent in HE staining.

Keyword: Deparaffinization ; Mandar coconut oil ; Xylol



1. Pendahuluan

Histoteknik merupakan serangkaian pembuatan sediaan histologi dari sampel berupa jaringan melalui suatu tahapan proses sampai menjadi sediaan preparat yang akan dianalisis menggunakan mikroskop (Callis, 2022). Preparat histologi dapat menguraikan berbagai aspek seperti susunan, inti, sitoplasma, bentuk serta struktur serat jaringan ikat dan otot dengan kondisi yang mencerminkan keadaan nyata saat jaringan tersebut masih (Hardi *et al.*, 2024). Proses preparasi histologis terdiri dari beberapa tahap meliputi fiksasi (fixation), dehidrasi (dehydration), pembersihan (clearing), pembedaan (embedding). Selanjutnya pengecoran (blocking), pemotongan jaringan (sectioning), pewarnaan (staining), pemasangan (mounting), dan terakhir pelabelan (labeling), (Elen, 2022).

Pewarnaan adalah tahapan memberikan warna pada jaringan yang telah dipotong untuk memudahkan identifikasi jaringan saat pengamatan di bawah mikroskop (Salsabila *et al.*, 2021). Hematoksilin-eosin merupakan pewarna yang biasa digunakan untuk mewarnai histologi. Hematoksilin bersifat basa yang berarti mewarnai komponen basofilik jaringan. Hematoksilin mewarnai inti sel dan struktur asam lainnya menjadi biru. Pada saat yang sama, eosin bersifat asam mewarnai komponen jaringan eosinofilik seperti mitokondria, butiran sekretorik, dan kolagen merah muda (Wibowo dan Taulany, 2024). Hematoksilin-eosin banyak digunakan pada proses pewarnaan jaringan. Pewarnaan jaringan yang menggunakan metode ini harus mendapat perlakuan khusus di awal pencelupan sebelum memulai prosedur pewarnaan yaitu proses deparafinisasi. Adanya paraffin yang terikat pada jaringan dapat menyebabkan tidak ada satupun pewarna yang dapat masuk ke dalam jaringan dan diserap olehnya. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah menjalani proses deparafinisasi (Pratiwi dan Armalina, 2021).

Proses deparafinisasi merupakan tahapan yang perlu diperhatikan dalam pewarnaan preparat jaringan. Sifat dasar lilin parafin adalah ketidaklarutannya dalam air (hidrofobik) sehingga lilin parafin harus dilarutkan dengan suatu pelarut yang bersifat non-polar. Pelarut non-polar xylol umum dipergunakan pada tahapan deparafinisasi (Alwahaibi dan Aldughaihi, 2019). Xylol atau dimetilbenzena, juga dikenal sebagai dimetilbenzena, termasuk dalam keluarga benzena dan memiliki rumus molekul $(CH_3)_2C_6H_4$. Xylol diproduksi melalui metilasi toluena dan benzena. Cairan tidak berwarna ini, terbuat dari minyak bumi atau aspal cair, mudah dibuat dan sering digunakan sebagai pelarut (Prema *et al.*, 2020). Selain kegunaannya, xylol sendiri memiliki banyak efek toksik, antara lain menghirup uap yang berdampak pada sistem saraf pusat (SSP) sehingga menimbulkan gejala pusing, mual, dan sakit kepala. Selain itu, dapat menyebabkan neurotoksisitas akut, gagal ginjal dan kerusakan organ jantung, toksisitas hati, diskrasia darah yang berpotensi fatal, eritema kulit, kulit kering, dan pengelupasan kulit. Selain dampak negatifnya untuk kesehatan, xylol beredar di pasaran dengan harga yang terbilang mahal (Thamilselvan *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian tentang bahan alternatif pengganti xylol sebagai agen deparafinisasi telah dikembangkan (Singh *et al.*, 2023). Beberapa diantaranya yaitu, Badjuri *et al.* (2023) yang meneliti aplikasi virgin coconut oil sebagai bahan pengganti xylol pada proses deparafinisasi karena dominan mengandung asam laurat yang bersifat non-polar. Selanjutnya Putri *et al.*, (2023) yang meneliti penggunaan minyak kenanga dengan dan tanpa pemanasan sebagai pengganti xylol. Minyak kenanga memiliki sifat non-polar yang dapat menghilangkan sisa paraffin pada jaringan. Pencarian bahan alami lain sebagai pengganti xylol sebagai agen deparafinisasi masih terus dikembangkan, salah satu bahan alami yang relatif aman adalah Minyak Kelapa Mandar yang berpotensi karena juga mempunyai kandungan asam laurat.

Minyak kelapa tradisional Mandar (MTM) adalah salah satu kekayaan dari daerah setempat, hasil produksi masyarakat dengan aroma khas yang menjadi sumber kebanggaan bagi suku Mandar. Minyak kelapa Mandar memiliki kandungan asam lemak jenuh atau Saturated fatty acid "SFA" yang tersusun dari beberapa jenis zat, seperti asam laurat, asam kaproat, asam pelargonat, asam kaprilat, dan asam lemak jenuh lainnya. Di antara semua asam lemak ini, asam laurat paling banyak ditemukan dengan persentase 17,55% dibandingkan dengan yang lain (Musafira dan Fardinah, 2020). Asam laurat memiliki sifat non-polar

sehingga dia bisa larut dalam eter dan pelarut organik lainnya tetapi tidak larut dalam air, sifat non-polar inilah yang dapat membantu menghilangkan sisa paraffin di dalam jaringan (Sofyanita dan Azahra, 2023).

Pencarian bahan alami lain sebagai pengganti xylol sebagai agen deparafinisasi masih terus dikembangkan. Beberapa penelitian terkait diantaranya Pratiwi dan Armalina (2021) yang meneliti penggunaan minyak zaitun dan Putri *et al.*, (2023) yang menggunakan minyak kenanga. Terdapat keterbatasan penelitian sebelumnya yaitu ketebalan jaringan tidak seragam. Oleh karena itu, peneliti bermaksud mengeksplorasi lebih lanjut dengan mengatasi keterbatasan penelitian sebelumnya menggunakan bahan alami baru pengganti xylol yaitu minyak kelapa mandar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas hasil pewarnaan preparat hepar mencit pada proses deparafinisasi menggunakan xylol dan minyak kelapa mandar dengan pewarnaan Hematoksilin-eosin.

2. Metode

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Hewan Kota Semarang dan Laboratorium Sitohistoteknologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Tahap pertama penelitian dilakukan pembuatan Minyak Kelapa Mandar (MTM). Pembuatan dimulai dengan pengupasan dan pamarutan daging kelapa untuk selanjutnya dilakukan pemerasan untuk dihasilkan santan. Santan segar dimasak selama 5-6 jam, dari 25 butir kelapa akan dihasilkan 4 liter minyak kelapa mandar (Dahniar *et al.*, 2024).

Populasi penelitian adalah jaringan hepar mencit dan sampel yang digunakan adalah preparat jaringan hepar mencit yang telah memenuhi semua kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi: 1) tebal preparat jaringan hepar 4 μ m, 2) preparat dalam keadaan baik; kriteria eksklusi: preparat jaringan yang rontok. Pemilihan organ hepar dikarenakan hati merupakan kelenjar dengan ukuran terbesar dan mempunyai konsistensi tidak terlalu padat ataupun lunak). Besar sampel didapatkan dari rumus federerr $(n-1)(t-1) \geq 15$ sehingga didapatkan total sampel sebanyak 40 preparat yang terbagi menjadi dua kelompok perlakuan sesuai Tabel 1.

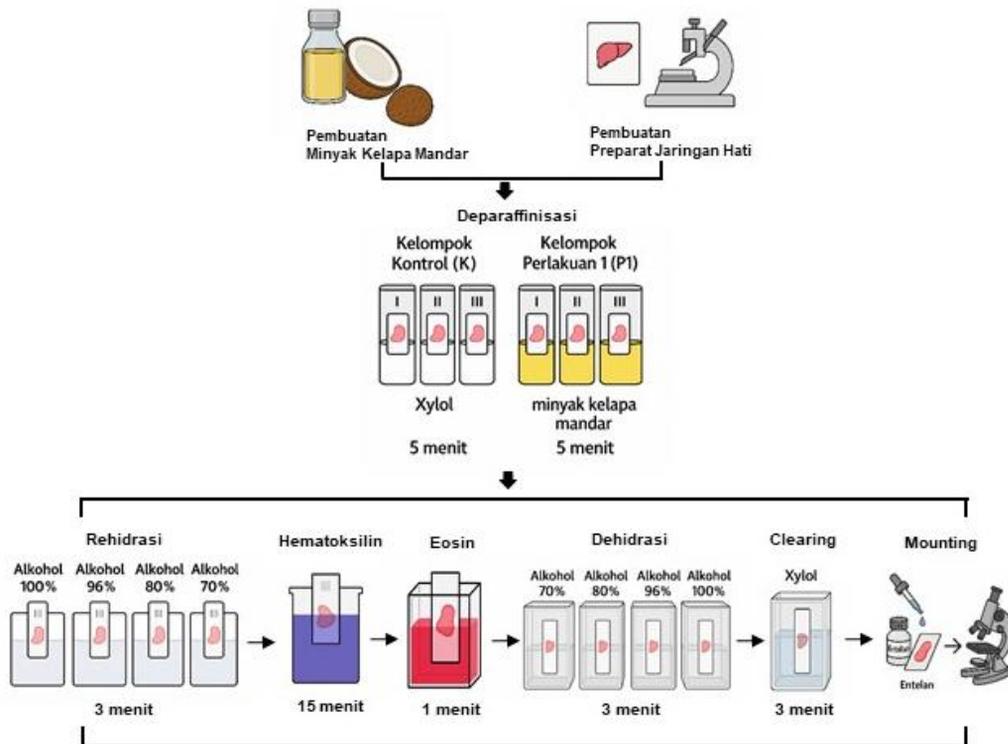
Tabel 1 Pengelompokan eksperimen

Kelompok	Perlakuan	Jumlah sampel
K (<i>xylol</i>)	Jaringan preparat hepar dicelupkan pada xylol I, II, III dengan waktu masing-masing selama 5 menit.	20
P1 (minyak kelapa mandar)	Jaringan preparat hepar dicelupkan pada minyak kelapa mandar I, II, III masing-masing selama 5 menit.	20
Jumlah		40

Tahap penelitian selanjutnya ditampilkan pada Gambar 1. Masing-masing sampel dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) meliputi, a) Deparafinisasi: preparat jaringan dicelupkan ke agen deparafinisasi sesuai pembagian kelompok eksperimen; b) Rehidrasi: dicelupkan ke alkohol bertingkat (alkohol absolut, 96%, 80%, 70%) masing-masing 3 menit, lalu dibilas aquadest sebanyak 3 menit; c) Hematoksilin: dicelupkan ke cat hematoxylin selama 15 menit; d) Eosin: dicelupkan ke cat eosin selama 1 menit; e) Dehidrasi: dicelupkan ke alkohol bertingkat (70 %, 80%, 96%, dan 100%) masing-masing 3 menit; f) Clearing: dicelupkan xylol 3 menit; g) Mounting: preparat ditutup dengan entelan.

Selanjutnya dilakukan pembacaan preparat terhadap kualitas hasil pewarnaan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna secara mikroskopis sesuai Tabel 2. Data yang terkumpul selanjutnya diuji statistik dengan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) menggunakan uji Mann-whitney.

Gambar 1. Tahapan prosedur kerja penelitian



Hasil Seluruh tahapan ekperimental dalam penelitian ini telah memenuhi standar etik sesuai sertifikat No.799/XII/2024/Komisi Bioetik oleh Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Tabel 2. Kriteria penilaian kualitas hasil pewarnaan jaringan

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

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hasil Preparat yang telah dilakukan pewarnaan diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 40× lensa objektif, selanjutnya dilakukan penilaian kualitas hasil pewarnaan berdasarkan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna. Pembacaan dilakukan oleh dua teknisi laboratorium di bidang sitohistoteknologi dengan 40 lapang pandang setiap preparat. Total terdapat 40 preparat dengan masing-masing perlakuan sebanyak 20 preparat. Hasil pengamatan mikroskopis preparat jaringan hepar mencit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan mikroskopis pada 40 sampel

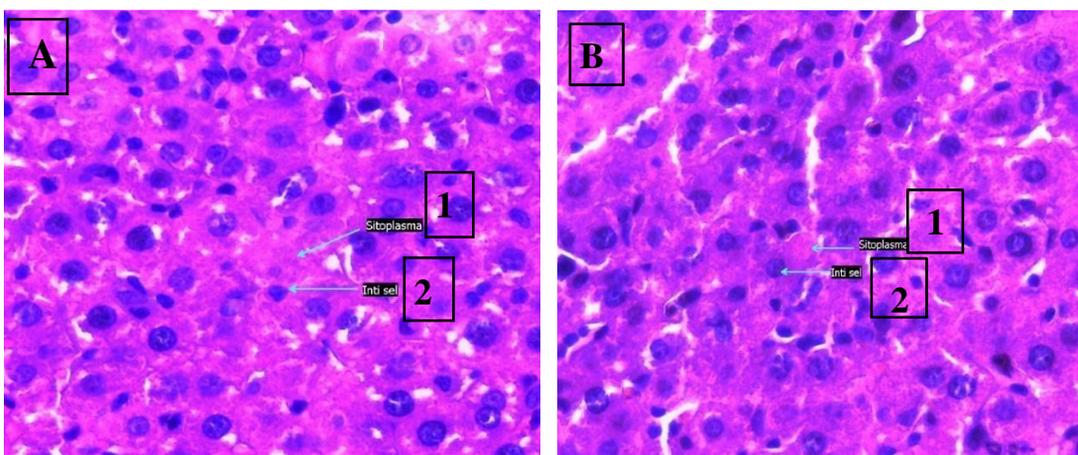
Kelompok	Kode sampel	N	Gambaran Mikroskopis			Hasil rata-rata	Ket
			Inti Sel	Sitoplasma	Keseragaman warna		
Xylol (Kontrol)	K1-K10	20	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	K11-K20		3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	Total		40				
Minyak Kelapa Mandar	P1-P19	20	3,0	3,0	3,0	3,0	Baik
	P20		3,0	3,0	2,0	2,67	Baik
Total		40					

Tabel 4. Hasil kualitas kualitas hasil pewarnaan jaringan pada 40 sampel

Kelompok	Kriteria penilaian kualitas					
	Tidak Baik (1,0-1,9)		Skor 2 (2,0-2,4)		Baik (2,5-3,0)	
	N	%	N	%	N	%
Xylol	0	(0)	0	(0)	20	100%
Minyak Kelapa Mandar	0	(0)	0	(0)	20	100%
Total					40	

Tabel 3 dan 4 menunjukkan hasil kualitas pewarnaan HE pada 40 preparat jaringan hepar mencit yang dilakukan deparafinisasi dengan xylol dan minyak kelapa mandar didapatkan hasil 100% skor 3 (Baik). Hasil perhitungan persentase tersebut didapatkan berdasarkan kriteria penilaian preparat secara mikroskopis meliputi inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna.

Gambar 2. Kualitas hasil pewarnaan hematoxilin eosin preparat hepar mencit pada proses deparafinisasi, Keterangan: (A) minyak kelapa mandar skor 3, (B) Xylol skor 3; (1) sitoplasma, (2) inti sel.



Gambar 2 menunjukkan hasil pengamatan pewarnaan hematoxilin-eosin pada sampel, didapatkan hasil tidak ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan pada kelompok kontrol (xylol) dan kelompok perlakuan (minyak kelapa mandar). Hasil tersebut sesuai dengan hasil uji statistik menggunakan Man whitney didapatkan signifikansi $p:0,074$ ($p>0,05$),

mengindikasikan tidak terdapat perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan preparat hepar mencit pada tahap deparafinisasi menggunakan xylol dan minyak kelapa Mandar dengan hematoksilin-eosin.

Deparafinisasi adalah tahap pertama sebelum proses pewarnaan dan biasanya memakai larutan xylol atau xylene. Tujuannya adalah untuk menghapus sisa parafin yang berlebihan pada jaringan atau sampel agar jaringan dapat terlihat dengan jelas. Xylol atau xylene adalah cairan yang stabil dan cepat dalam menghilangkan larutan dehidrasi, serta mudah dalam menghapus parafin cair. Proses ini menyebabkan sedikit kerusakan jaringan, serta harganya yang cukup tinggi (Marinho dan Hanscheid, 2023). Sedangkan agen alternatif Minyak kelapa mandar adalah cairan yang bersifat lipofilik tinggi, mengandung asam laurat (sekitar 45–50%) dan asam kaprat, yang membuatnya stabil terhadap panas dan tidak mudah teroksidasi. Tidak bersifat toksik, tidak volatil, dan tidak menyebabkan iritasi saluran pernapasan seperti xylol. Memiliki kandungan senyawa seperti tokotrienol dan fenolik bisa menambah kestabilan bahan selama proses (Kantipudi *et al.*, 2020). Fungsi deparafinisasi pada proses pewarnaan adalah agar komponen jaringan seperti inti sel dan sitoplasma terwarnai dengan baik karena sisa parafin pada jaringan dan kaca objek dihilangkan dengan reagen deparafinisasi untuk memungkinkan penyerapan pewarna yang optimal (Humphries *et al.*, 2024). Ciri-ciri larutan yang dapat digunakan sebagai agen deparafinisasi yaitu bersifat nonpolar, hidrofobik, tidak larut dalam air tetapi larut dalam eter, alkohol, serta larutan organik yang lain, dan mempunyai kemampuan menghilangkan parafin lebih cepat dengan dampak terhadap kerusakan jaringan kecil (Prema *et al.*, 2020).

Jaringan hepar mencit yang dilakukan deparafinisasi dengan xylol sebagai bahan kontrol pada pewarnaan hamatoksilin eosin menunjukkan kualitas hasil pewarnaan dengan skor 3 dalam kategori baik meliputi inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna. Kualitas hasil pewarnaan dikatakan baik ditandai dengan inti sel terwanai biru jelas, warna pada sitoplasma merah jelas, dan keseragaman warna didapatkan seragam. Hasil penelitian ini dikuatkan laporan oleh Jumardi *et al.*, (2023) yang menyebutkan bahwa hasil pengamatan kualitas pewarnaan preparat jaringan dengan deparafinisasi menggunakan xylol menunjukkan gambaran mikroskopis yang baik. Rata-rata intensitas warna biru pada inti sel tampak jelas, sitoplasma juga terlihat jelas, dan hasil warna secara keseluruhan mencapai keseragaman 100%. Kualitas baik dari pewarnaan jaringan ini terjadi karena xylol adalah bahan deparafinisasi yang sering dipakai dalam proses pewarnaan jaringan. Xylol sangat larut dengan bahan dehidran yang ada di paraffin. Xylol sangat mudah larut dalam agen dehidran pada paraffin. Xylol yang diberikan pada jaringan memberikan efek transparan ketika sediaan dilakukan pada proses pewarnaan (Thajudeen *et al.*, 2022).

Kualitas pewarnaan preparat jaringan hepar mencit yang di deparafinisasi menggunakan minyak kelapa mandar menunjukkan gambaran mikroskopis yang sama baiknya dengan deparafinisasi menggunakan xylol dengan hasil rata rata intensitas warna inti, sitoplasma dan keseragaman warna dari 20 preparat jaringan. Kualitas preparat yang baik disebabkan beberapa faktor yaitu minyak kelapa mandar memiliki kandungan asam laurat yang bersifat non polar yang dapat menghilangkan sisa paraffin yang terdapat pada jaringan (Musafira dan Fardinah, 2020). Minyak kelapa Mandar memiliki asam lemak tidak jenuh yaitu asam oleat tidak jenuh tunggal, dan asam linoleat. Asam lemak tidak jenuh bersifat tidak larut dalam air tetapi tidak mudah larut dalam pelarut non-polar (Sofyanita dan Azahra, 2023).

Pembahasan

Hasil penelitian baik secara kualitatif dan statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kualitas hasil pewarnaan Hematoksilin-eosin preparat jaringan hepar mencit pada proses deparafinisasi menggunakan xylol dan minyak kelapa. Hal ini menunjukkan bahwa minyak kelapa mandar mampu menggantikan fungsi xylol sebagai agen deparafinisasi sehingga minyak kelapa mandar dapat digunakan sebagai bahan alternatif pengganti xylol. Hasil ini sejalan dengan penelitian Putri *et al.*, (2023) menyebutkan bahwa xylol dapat digantikan dengan minyak kenanga (*Cananga Odorata*) sebagai agen deparafinisasi yang diperoleh

kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan yang baik yaitu warna biru pada inti sel jelas dan warna merah pada sitoplasma jelas. Larutan minyak kenanga mengandung β -caryo-phyllene yang bersifat non-polar yang dapat melarutkan lemak yang terkandung dalam jaringan dan membuat pori-pori jaringan terbuka sehingga dapat menghilangkan sisa paraffin pada jaringan agar memudahkan pada proses pewarnaan. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Nuroini *et al.*, (2024) juga menyebutkan bahwa hasil pengamatan kualitas pewarnaan preparat jaringan pada proses deparafinisasi didapatkan skor 3 dalam kategori baik. Hal ini disebabkan karena minyak biji pala yang bersifat non-polar yang mudah larut dalam paraffin sehingga dapat melarutkan paraffin dari jaringan.

Minyak kelapa mandar bisa dimanfaatkan sebagai alternatif xylol dengan beberapa keunggulan yaitu ekonomis, praktis, mudah didapatkan, dan aman digunakan dalam jangka panjang karena berasal dari bahan alam.

4. Simpulan dan Saran

Simpulan

Hasil yang didapat dari penelitian ini menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan yang baik (skor 3) terlihat pada semua sampel (100%) dari kelompok xylol dan minyak kelapa mandar. Tidak ada perbedaan dalam kualitas pewarnaan antara xylol dan minyak kelapa mandar ($p > 0,05$) ketika digunakan sebagai agen deparafinisasi dalam pewarnaan Hematoksilin eosin. Dengan demikian, bisa disimpulkan bahwa minyak kelapa mandar dapat digunakan secara efektif sebagai alternatif agen deparafinisasi dalam pewarnaan Hematoksilin eosin.

Saran

Dapat direkomendasikan berdasarkan hasil penelitian yang didapat yaitu penggunaan minyak kepala Mandar (MTM) sebagai agen alternatif xylol untuk deparafinisasi yang lebih aman bagi lingkungan dan tenaga kesehatan.

5. Daftar Pustaka

- Alwahaibi, N. Y., & Aldughaiishi, S. H. (2019). A substitute to xylene in deparaffinization and clearing prior to coverslipping in histopathology. *Journal of laboratory physicians*, 11(2), 118–122. <https://doi.org/10.4103/JLP.JLP.169.18>
- 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>
- Callis, G. M. (2022). Journal of Histotechnology as an educational tool. *Journal of Histotechnology*, 45(2), 55-55. <https://doi.org/10.1080/01478885.2022.2065733>
- Dahniar, D., Dewi, S., & Masita, N. (2024). Produksi dan Pendapatan Industri Rumah Tangga Minyak Kelapa Mandar di Kabupaten Majene. *AGROVITAL: Jurnal Ilmu Pertanian*, 9(1), 42-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.35329/agrovital.v9i1.5021>
- Elen, M. R. (2022). Microscopic Quality Profile of Mice Liver (*Mus musculus*) with 2 μ m, 5 μ m and 8 μ m Thickness Sections. *Jaringan Laboratorium Medis*, 4(2), 71-78. DOI: <https://doi.org/10.31983/jlm.v4i2.8483>
- Hardi, Z., Wiryanti, W., Durachim, A., & Rahmat, M. (2024). The effect of reusing formaldehyde fixative solution on the quality of histopathological slides and the amount of waste produced. *Current Biomedicine*, 2(2), 71-83. <https://doi.org/10.29244/currbiomed.2.2.71-83>
- Humphries, E. M., Loudon, C., Craft, G. E., Hains, P. G., & Robinson, P. J. (2024). Quantitative Comparison of Deparaffinization, Rehydration, and Extraction Methods for FFPE Tissue Proteomics and Phosphoproteomics. *Analytical chemistry*, 96(33), 13358–

13370. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c04479>
- Jumardi, M., Iswara, A., Putri, G. S. A., & Ariyadi, T. (2023). Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Menggunakan Hematoxylin Eosin dan Ekstrak Daun Jati Sebagai Pengganti Eosin. *Prosiding Seminar Nasional Unimus* (Vol. 6). <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/semnas/article/view/1582878-887>
- Kantipudi, S., Taneeru, S., & Veeresh, D. J. (2020). Coconut oil: A novel substitute for xylene in deparaffinization of sections. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 24(1), 82–86. <https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP.182.19>
- 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*, 10, 102079. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102079>
- Musafira, D., & Fardinah, N. (2020). Pengaruh Kadar Air dan Kadar Asam Lemak Bebas Terhadap Masa Simpan Minyak Kelapa Mandar. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 224-229. DOI: <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15344>
- Nuroini, F., Ariyadi, T., & Mubarak, R. (2024). Gambaran Kualitas Sediaan Hepar Mencit Menggunakan Minyak Pala Sebagai Agen Deparafinisasi Pewarnaan HE. *Prosiding Seminar Nasional Unimus* (Vol.7). 687-680 <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/semnas/article/view/1769>
- Pratiwi, E. N., & Armalina, D. (2021). Microscopic of Mus Musculus Kidney Preparation Deparaffinized with Olive Oil in Eosin Hematoxylin (HE) Staining. *Jaringan Laboratorium Medis*, 3(1), 61-66. DOI: <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>
- Putri, G. S. A., Diyanah, D., & Iswara, A. (2024). The Effectiveness of Ylang Ylang Oil (Cananga Odorata) as a Deparaffinizing Agent in Hematoxylin-Eosin Staining. *Jaringan Laboratorium Medis*, 6(1), 1-8. <https://doi.org/10.31983/jlm.v6i1.10824>
- Salsabila, N., Nasruddin, N., Ariyadi, T., & Putri, G. S. A. (2021). Gambaran Mikroskopis Jaringan Kulit Normal Mencit Balb/C Setelah Perlakuan Plasma Jet Dengan Pengecatan Hematoxylin Eosin. *Jurnal Labora Medika*, 5(2), 57-62. DOI: <https://doi.org/10.26714/jlabmed.5.2.2021.57-62>
- Singh, P., Dave, A., Arora, M., Madan, P. S., & Rai, R. (2023). Evaluation of the efficacy of hematoxylin and eosin stain when xylene is completely replaced by turpentine or kerosene oil - A comparative study for oral tissues. *Indian journal of pathology & microbiology*, 66(4), 775–779. <https://doi.org/10.4103/ijpm.ijpm.389-22>
- Sofyanita, E. N., & Azahra, N. (2023). Pengaruh penggunaan minyak kelapa murni sebagai larutan clearing pada sediaan hepar mencit. *Jurnal Analisis Laboratorium Medik*, 8(1), 57-65. <https://doi.org/10.51544/jalm.v8i1.3945>
- Thajudeen, A., Srinivasan, S., Govindarajan, G., & Shanmugam, A. (2022). A comparative study of efficacy of coconut oil, lemon water and dishwashing liquid as surrogates to xylene. *Environmental analysis, health and toxicology*, 37(3), e2022026. <https://doi.org/10.5620/eaht.2022026>
- Thamilselvan, S., Sherlin, H. J., Jayaraj, G., Don, K. R., & Santhanam, A. (2021). Cedarwood oil as an alternative to xylene as a clearing agent in histopathological tissue processing - A comparative study. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 25(2), 299–305. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.325232>
- Wibowo, T., & Maulani, Y. (2024). Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin-Eosin Preparat Limfonodi Pada Proses Clearing Menggunakan Xylol Dan Minyak Zaitun. *Plenary Health: Jurnal Kesehatan Paripurna*, 1(3), 197-201. DOI: <https://doi.org/10.37985/plenaryhealth.v1i3.562>