

**POTENSI MINYAK BIJI ANGGUR SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF  
PENGGANTI BAHAN KIMIA TOKSIK PADA PROSES  
*CLEARING* DALAM PENELITIAN**

Oleh

**BALQIS MEZZALUNA D' AZZURI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Jurusan Pendidikan Dokter  
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

**POTENSI MINYAK BIJI ANGGUR SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF  
PENGGANTI BAHAN KIMIA TOKSIK PADA PROSES  
*CLEARING* DALAM PENELITIAN**

Oleh

**BALQIS MEZZALUNA D' AZZURI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Jurusan Pendidikan Dokter  
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Sungai Penuh, Jambi pada tanggal 24 November 2001. Merupakan anak pertama dari tiga bersaudara yang dilahirkan dari pasangan Bapak H. Erik Rico Ferdian dan ibu Hj. Dhiva Novita, S.P. Penulis memiliki dua adik laki-laki yang bernama Raffi Achmad Alghazali dan Griffin Achmad Elsyirazi.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Taman kanak-kanak (TK) di TK Pembina Sungai Penuh pada tahun 2007, Sekolah Dasar (SD) di SDIT Amanah Sungai Penuh pada tahun 2013, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPIT Ar-Raihan Bandar Lampung pada tahun 2016 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 1 Kota Sungai Penuh pada tahun 2019.

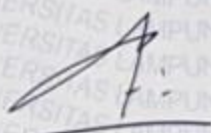
Pada tahun 2019 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Program Studi Pendidikan Dokter. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti berbagai kegiatan organisasi seperti Lembaga Kemahasiswaan DPM (Dewan Perwakilan Masiswa) FK Unila sebagai Ketua Komisi C 2020-2021 dan Sekretaris Pemilihan Raya 2019.

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

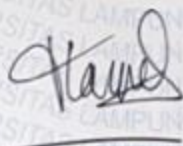
Ketua

: **Dr. dr. Susianti, S.Ked., M. Sc**



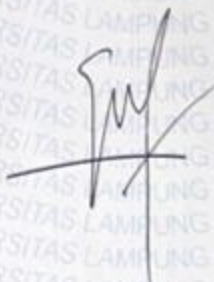
Sekretaris

: **dr. Nisa Karima, S.Ked., M.Sc**



Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M. Sc.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



**Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.**

NIP.19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **3 Juli 2023**

Judul Skripsi : **POTENSI MINYAK BIJI ANGGUR  
SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF  
PENGANTI BAHAN KIMIA TOKSIK  
PADA PROSES CLEARING DALAM  
PENELITIAN**

Nama Mahasiswa : **Balqis Mezzaluna D' Azzuri**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1958011003

Program Studi : Pendidikan Dokter


Fakultas : Kedokteran



Pembimbing I


Pembimbing II

  
Dr. dr. Susianti, S.Ked., M. Sc  
NIP. 197808052005012003

  
dr. Nisa Karima, S.Ked., M.Sc  
NIP. 198811212020122014

Plt. Dekan Fakultas Kedokteran



  
Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.  
NIP. 197407052000031001

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul “Potensi Minyak Biji Anggur sebagai Bahan Alternatif Pengganti Bahan Kimia Toksik pada Proses *Clearing* dalam Penelitian” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 20 Juli 2023  
Pembuat pernyataan,



METERAI  
TEMPEL  
37/C1AKX626419275

Balqis Mezzaluna D' Azzuri

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis sehingga Alhamdulillah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi yang penulis tulis dengan judul “Potensi Minyak Biji Anggur Sebagai Bahan Alternatif Pengganti Bahan Kimia Toksik Pada Proses *Clearing* dalam penelitian” ini disusun untuk memenuhi syarat-syarat guna mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan juga karena penulis banyak mendapatkan masukan, kritik dan saran, dukungan, serta doa dari berbagai pihak. Maka dalam kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan rasa terimakasih yang mendalam kepada:

1. Prof. Dr. Ir Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T. selaku Plt Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M. Sc. , selaku Pembimbing 1 yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penyusunan skripsi ini, serta membantu, memberi kritik dan saran. Terimakasih atas ilmu, bimbingan, kebaikan, serta arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.
4. dr. Nisa Karima, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penyusunan skripsi ini, serta membantu, memberi kritik dan saran. Terimakasih atas ilmu, bimbingan, kebaikan, serta arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.

5. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc., selaku pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu untuk kesediannya dalam membahas serta memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini. Terimakasih atas ilmu, kebaikan, serta arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.
6. dr. Adityo Wibowo, Sp.P., selaku dosen Pembimbing Akademik penulis yang telah memberikan masukan serta dukungan dalam bidang akademik selama penulis menjadi mahasiswa.
7. Seluruh dosen pengajar, staf dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang selalu membantu dalam proses pembelajaran selama kuliah dan penyelesaian skripsi.
8. Kedua orang tua tercinta, Abi H. Erik Rico Ferdian. dan Ummi Hj. Dhiva Novita, S.P., terima kasih atas doa, cinta, ridha dan kasih sayang yang selalu ummi dan abe berikan kepada Luna sampai hari ini, terima kasih atas dukungan dan motivasi, terima kasih sudah mendidik Luna menjadi sosok yang tegar dan mandiri sehingga Luna bisa berada di tahap ini. Terima kasih sudah menjadi orang tua yang hebat untuk ketiga anak-anaknya.
9. Adik saya, Raffi dan Griffin terimakasih atas dukungan dan doa yang selalu diberikan serta menjadi *support system* yang bisa diandalkan.
10. Segenap keluarga besar penulis yang telah memberikan dukungan dan doa doa kepada penulis.
11. Daffa yang selalu ada disaat senang-susah, membantu dalam penyusunan skripsi, dan selalu menjadi *support system*.
12. Sahabat-sahabat tercinta Elixir, Ferra, Pute, Fathia, dan Mila yang telah menemani hari-hari penulis selama menghadapi kehidupan perkuliahan, menjadi tempat berkeluh-kesah, menjadi teman dikala senang dan susah.
13. Alin yang selalu ada, menemani, dan menjadi teman yang baik.
14. Teman-teman anggota DPM FK UNILA yang selalu memberikan semangat, dukungan dan motivasi kepada penulis.
15. Teman teman “Ligamentum x Ligand” mahasiswa angkatan 2019 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, teman-teman seperjuangan, atas segala keceriaan, dukungan, motivasi dan bantuannya selama ini.



16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan waktu, dukungan, serta menyumbangkan ilmu, ide, buah pemikirannya dalam pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam pembuatan skripsi ini dan belum sempurna, karena kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Walaupun demikian penulis berharap, skripsi yang diselesaikan dengan penuh semangat dan perjuangan ini, kebermanfaatannya dapat digunakan dan dirasakan bagi banyak pihak. Semoga kita senantiasa berada dalam lindungan Allah SWT. Amiin.

## ABSTRAK

### POTENSI MINYAK BIJI ANGGUR SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF PENGGANTI BAHAN KIMIA TOKSIK PADA PROSES *CLEARING* DALAM PENELITIAN

Oleh

**BALQIS MEZZALUNA D'AZZURI**

**Latar Belakang:** *Clearing* merupakan tahapan penting dalam persiapan histologi jaringan sebelum diperiksa dengan mikroskop. Tahap ini bertujuan membersihkan jaringan agar dapat disisipkan dengan bahan penyemat. Xilol umumnya digunakan karena kompatibilitasnya dengan bahan penyemat seperti alkohol dan parafin. Namun, xilol memiliki efek toksik yang berbahaya bagi tubuh. Dalam pembuatan jaringan histopatologi, telah ditemukan alternatif bahan *clearing* yang lebih aman seperti minyak nabati (misalnya minyak kelapa, kacang tanah, zaitun, sawit, jagung, dan biji anggur). Bahan-bahan ini dapat digunakan sebagai agen *clearing* tanpa mempengaruhi struktur jaringan histologi, lebih terjangkau, dan tidak menimbulkan risiko kesehatan.

**Tujuan:** Untuk mengetahui potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti xilol pada proses *clearing* dalam pembuatan sediaan histologis.

**Metode:** Penelitian eksperimental ini menggunakan pendekatan deskriptif kualitatif untuk membandingkan dua kelompok yang berbeda. Kelompok pertama menjalani proses *clearing* dengan xilol, sementara kelompok kedua menjalani proses *clearing* dengan minyak biji anggur. Organ yang digunakan dalam penelitian ini adalah ginjal dan hepar mencit (*Mus musculus*). Total sampel yang diuji sebanyak 32 preparat.

**Hasil:** Dalam analisis statistik menggunakan SPSS, ditemukan bahwa nilai deviasi standar total untuk penilaian xilol adalah 0,925, sedangkan untuk penilaian minyak biji anggur adalah 1,201. Secara umum, pengamatan terhadap kualitas sediaan jaringan ginjal dan hepar pada percobaan *clearing* dengan xilol menunjukkan hasil yang lebih baik daripada *clearing* dengan minyak biji anggur. Meskipun demikian, secara deskriptif, kualitas keduanya hampir sama, hanya terdapat selisih 5% dari kualitas preparat yang baik.

**Simpulan:** Terdapat potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

**Kata kunci:** Agen *clearing*, xilol, minyak biji anggur.

## ABSTRACT

### THE POTENTIAL OF GRAPSEED OIL AS AN ALTERNATIVE SUBSTITUTE OF TOXIC CHEMICALS IN THE CLEARING PROCESS IN RESEARCH

By

BALQIS MEZZALUNA D'AZZURI

**Background:** Clearing is an important step in tissue histology preparation prior to microscopic examination. This stage aims to clean the network so that it can be pasted with embedding material. Xylol is commonly used because of its compatibility with fixing agents such as alcohol and paraffin. However, xylol has a toxic effect that is harmful to the body. In making histopathological tissue, safer alternatives for clearing materials have been found, such as vegetable oils (eg coconut, peanut, olive, palm, corn and grapeseed oils). These materials can be used as clearing agents without affecting the histological tissue structure, are more affordable, and pose no health risks.

**Objective:** To determine the potential of grapeseed oil as an alternative to xylol in the clearing process in the manufacture of histological preparations.

**Method:** This experimental research uses a qualitative descriptive approach to compare two different groups. The first group underwent a clearing process with xylol, while the second group underwent a clearing process with grapeseed oil. The organs used in this study were the kidneys and liver of mice (*Mus musculus*). The total samples tested were 32 preparations.

**Result:** In statistical analysis using SPSS, it was found that the standard deviation of the total value for xylol was 0.925, while for grapeseed oil was 1.201. In general, observations of the quality of kidney and liver tissue preparations in the clearing experiment with xylol showed better results than clearing with grapeseed oil. Nevertheless, descriptively, the quality of the two is almost the same, there is only a 5% difference from the quality of good preparation.

**Conclusion:** There is potential for grape seed oil as an alternative to toxic chemicals in the clearing process in research.

**Keywords:** clearing agent, xylol, grapeseed oil.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.4.1 Bagi Peneliti.....	3
1.4.2 Bagi Institusi .....	3
1.4.3 Mahasiswa dan Masyarakat.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Histoteknik .....	4
2.1.1 Fiksasi .....	4
2.1.2 Dehidrasi.....	5
2.1.3 <i>Clearing</i> .....	5
2.1.4 <i>Staining</i> .....	6
2.1.5 <i>Mounting</i> .....	6
2.2 Xilol dan Toksisitasnya.....	6
2.3 Minyak Biji Anggur ( <i>Grapeseed Oil</i> ).....	8
2.4 Penilaian Gambaran Mikroskopis Jaringan .....	9
2.5 Kerangka Teori.....	11
2.6 Kerangka Konsep.....	12
2.7 Hipotesis.....	12

<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
3.1 Desain Penelitian.....	13
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian .....	13
3.2.1 Waktu.....	13
3.2.2 Lokasi .....	13
3.3 Subjek Penelitian.....	13
3.3.1 Populasi Penelitian.....	13
3.3.2 Sampel Penelitian .....	14
3.4.1 Variabel Bebas .....	15
3.4.2 Variabel Terikat .....	15
3.6 Instrumen dan Teknik Pengambilan Data .....	17
3.7 Analisis Data .....	19
3.8 Prosedur Penelitian.....	19
3.9 Alur Penelitian .....	21
3.10 Etika Penelitian.....	22
<b>BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Gambaran Umum Sampel.....	23
4.2 Hasil Penelitian .....	23
4.3 Pembahasan.....	28
<b>BAB V KESIMPULAN &amp; SARAN .....</b>	<b>33</b>
5.1 Kesimpulan .....	33
5.2 Saran.....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Kriteria Penilaian Preparat .....	9
2. Penilaian Total Preparat.....	10
3. Definisi Operasional .....	16
4. Kriteria Penilaian Preparat .....	18
5. Penilaian Total Gambaran Mikroskopis Jaringan.....	18
6. Analisis Karakteristik Gambaran Mikroskopis Jaringan.....	24
7. Hasil uji statistik deskriptif <i>clearing</i> menggunakan xilol dengan Menggunakan SPSS.....	27
8. Hasil uji statistik deskriptif <i>clearing</i> menggunakan minyak biji anggur dengan menggunakan SPSS.....	28

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
1.1 Struktur Kimia Xilol .....	7
1.2 Toksisitas Xilol .....	8
1.3 Kerangka Teori.....	11
1.4 Kerangka Konsep .....	12
3.1 Alur Penelitian .....	20
4.1 Gambaran mikroskopis ginjal dan hepar <i>clearing</i> menggunakan xilol .....	25
4.2 Gambaran mikroskopis ginjal dan hepar <i>clearing</i> menggunakan minyak biji anggur.....	25
4.3 Gambaran mikroskopis mencit <i>clearing</i> menggunakan minyak biji anggur terdapat sisa eritrosit .....	26
4.4 Gambaran mikroskopis mencit <i>clearing</i> menggunakan minyak biji anggur terdapat artifak endapan cat .....	27

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data Penilaian Gambaran Mikroskopis Jaringan
Lampiran 2	Surat Pernyataan <i>Ethical Clearance</i>
Lampiran 3	Surat Izin Penelitian
Lampiran 4	<i>Logbook</i> Penelitian
Lampiran 5	Sertifikat Hewan Uji
Lampiran 6	Dokumentasi Penelitian
Lampiran 7	Sampel Gambaran Mikroskopis Preparat



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Histoteknik merupakan ilmu yang mempelajari mengenai prosedur pembuatan sediaan histologis. Hingga kini, metode histoteknik masih menjadi salah satu standar terbaik yang digunakan dalam pembuatan preparat penelitian maupun prosedur diagnostik. Proses ini bertujuan untuk menyediakan sediaan histologis yang siap diamati dengan mikroskop (Mentari *et al.*, 2019). Fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, pemotongan dan pewarnaan sediaan merupakan tahapan untuk menghasilkan sebuah preparat histologis. Pada pembuatan sediaan jaringan, hasil yang diharapkan yaitu gambaran jaringan pada preparat sesuai dengan kondisi saat hidup (Mescher, 2016).

*Clearing* adalah salah satu tahapan penting dalam pembuatan preparat histologis. Pada tahap *clearing*, alkohol dan dehidran lainnya akan dikeluarkan dari jaringan dan digantikan dengan media *embedding* pada proses infiltrasi. Agen *clearing* yang dapat digunakan dalam pembuatan preparat histologi adalah *xylene* atau xilol, *toluene* atau *benzene*, kloroform, dan metil salisilat (Mentari *et al.*, 2019). Namun, kebanyakan agen *clearing* termasuk ke dalam zat kimia yang berbahaya. Dari banyak jenis agen *clearing*, xilol menjadi pilihan yang utama karena memiliki hasil *clearing* yang jernih. Meskipun demikian, penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa *xylene* atau xilol dapat menyebabkan neurotoksisitas akut, kerusakan jantung, beberapa diskrasia darah yang fatal, dan lainnya. Menurut Jacobson & McLean (2003), ada tiga pintu masuk (*port of entry*)

xilol ke dalam tubuh, yaitu melalui oral, inhalasi, dan dermal. Paparan oral jarang terjadi, sementara paparan saat inhalasi cenderung terjadi dikarenakan xilol mudah menguap dan masuk ke rongga paru-paru, hal tersebut dapat mengakibatkan iritasi pada saluran pernapasan. Peresapan pada dermal atau kulit tidak jarang terjadi, yang dimana kejadian tersebut dapat melarutkan lemak di kulit. Iritasi pada saluran pernapasan lebih sering terjadi dibandingkan iritasi pada kulit. (Cahyana *et al.*, 2015)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Rahmawati *et al.*, 2016), minyak sawit, minyak jagung, dan minyak kelapa dapat digunakan sebagai *clearing agent* alternatif dalam preparat histologis karena dapat mempertahankan struktur sel dengan baik, serta dapat menghasilkan preparat dengan kualitas pewarnaan yang baik. Swamy *et al.*, (2015) juga menyebutkan sebagian jenis minyak nabati seperti minyak wortel, minyak biji pinus, minyak zaitun, minyak biji anggur dan minyak bunga mawar dapat digunakan sebagai alternatif bahan pengganti xilol dan menunjukkan hasil yang relatif sama baik dengan xilol. Penelitian ini bertujuan mempelajari potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka permasalahan penelitian ini adalah: Apakah terdapat potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti xilol pada proses *clearing* dalam pembuatan sediaan histologis?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti xilol pada proses *clearing* dalam pembuatan sediaan histologis.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Bagi Peneliti**

Dapat meningkatkan wawasan dan pengetahuan peneliti mengenai potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

### **1.4.2 Bagi Institusi**

Diharapkan dapat menambah kepustakaan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan menjadi landasan untuk mengadakan penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

### **1.4.3 Mahasiswa dan Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada para laboran dan masyarakat luas tentang pemanfaatan minyak biji anggur sebagai substitusi xilol yang bersifat toksik, serta menyediakan bahan alternatif yang lebih aman, murah, mudah didapat dan tanpa mengurangi kualitas sediaan histologi yang dihasilkan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Histoteknik**

Histoteknik adalah ilmu yang mempelajari teknik pembuatan sediaan histologi dengan serangkaian proses dari spesimen tertentu yang akan digunakan untuk pengamatan dan analisis (Ananthalakshmi *et al.*, 2016). Tahapan pembuatan sediaan histologi meliputi tahapan fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan dan pewarnaan.

Prinsip dasar dari pembuatan sediaan histologis adalah menjaga integritas jaringan agar kondisi jaringan tetap mencerminkan kondisi pada saat hidup. Secara umum, langkah awal adalah dengan melakukan fiksasi menggunakan larutan fiksatif untuk mencegah sel mengalami kondisi post-mortem. Selanjutnya dilakukan dehidrasi menggunakan agen dehidran seperti etanol atau methanol untuk menghilangkan kandungan air dari spesimen. Setelah dehidrasi, selanjutnya adalah proses *clearing* yang bertujuan menggantikan agen dehidran dengan agen *clearing* agar dapat diisi dengan media *embedding* pada proses selanjutnya. Proses *embedding* sendiri adalah prosedur penanaman jaringan pada media *embedding* seperti parafin untuk memudahkan pemotongan jaringan dengan ukuran sangat tipis. Setelah dilakukan penanaman jaringan, selanjutnya dilakukan pemotongan menjadi irisan yang tipis dan dilanjutkan dengan proses pewarnaan jaringan.

##### **2.1.1 Fiksasi**

Fiksasi merupakan proses yang bertujuan untuk mengawetkan serta mengeraskan jaringan. Fiksasi juga berfungsi untuk menjaga molekul agar tetap utuh, menonaktifkan enzim lisosom yang

membuat komponen dan sel specimen tahan terhadap autolisis. Fiksasi dilakukan dengan tujuan mencegah rusaknya jaringan, menghentikan proses metabolisme, mengawetkan komponen histologis dan sitologis, serta menjaga bentuk sampel untuk tetap terlihat seperti sampel asli (Suvarna *et al.*, 2013).

Fiksasi sangat penting dilakukan dalam rentetan pengolahan suatu spesimen. Fiksasi dinilai dapat mempertahankan morfologi jaringan atau sel seperti ketika jaringan atau sel tersebut dalam kondisi mendapatkan suplai oksigen saat berada di dalam tubuh (Intan, 2018).

### **2.1.2 Dehidrasi**

Dehidrasi merupakan proses mengeluarkan larutan fiksatif dan air bebas tidak terikat. Proses dehidrasi perlu dilakukan secara perlahan-lahan. Spesimen diproses menggunakan metode peningkatan konsentrasi kadar alkohol secara bertingkat. Kerusakan pada jaringan dapat terjadi bila proses dehidrasi dilakukan secara berlebihan, jaringan dapat menjadi rapuh, keras, maupun menyusut. Pada proses dehidrasi, reagen yang dipilih aseton etanol, isopropil, etanol, methanol, alkohol terdenaturasi dan glikol (Suvarna *et al.*, 2013).

### **2.1.3 Clearing**

*Clearing* adalah salah satu tahapan penting dalam histoteknik. *Clearing* bertujuan menghilangkan agen dehidran dari jaringan agar siap diisi dengan agen *embedding*. Proses *clearing* dilakukan menggunakan reagen dengan indeks refraksi yang tinggi guna membentuk jaringan transparan yang menandakan proses *clearing* berjalan dengan baik. Agen *clearing* harus merupakan pelarut yang dapat larut sepenuhnya dengan alkohol dan parafin. Selain itu, agen *clearing* yang baik juga harus memiliki kemampuan untuk

dapat menghilangkan agen dehidran dengan cepat dari jaringan. Waktu yang diperlukan pada proses ini bervariasi tergantung pada agen *clearing* yang digunakan. Senyawa aromatik (*xylene* atau xilol, toluena, benzena) biasanya akan membutuhkan waktu yang lebih singkat dalam proses *clearing* dibandingkan senyawa alifatik seperti limonene (Lisowski, 2019).

#### **2.1.4 Staining**

Sebelum dilakukan pewarnaan, pada dasarnya sampel jaringan akan tampak bening dan tidak menunjukkan kontras antar bagian-bagiannya. Pewarnaan dilakukan agar tampak kontras antar bagian-bagiannya. Bahan pewarna secara selektif akan mewarnai bagian-bagian jaringan dan bersifat sebagai senyawa asam atau basa serta mempunyai kecenderungan mengikat jaringan membentuk garam (Subowo, 2009).

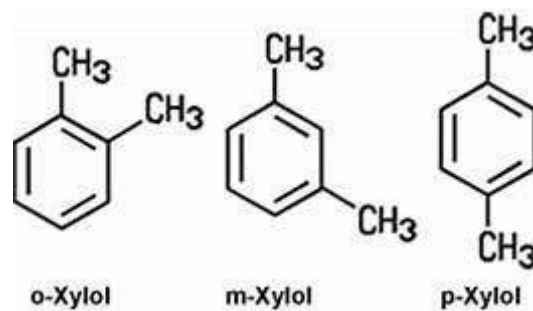
#### **2.1.5 Mounting**

Proses *mounting* merupakan penempelan jaringan pada kaca penutup (*deck glass*) menggunakan *mounting* media yaitu bahan perekat (*adhesive*). *Mounting* media adalah zat yang merekatkan sediaan dengan kaca penutup. Proses *mounting* dilakukan di akhir dan setelahnya sediaan dapat diamati dalam pemeriksaan makroskopis maupun mikroskopis. Dalam proses *mounting*, sediaan yang telah diawetkan diberi perekat di akhir pengerjaan berupa *entellan* dan ditutup oleh *deck glass* (Perceka, 2011).

## **2.2 Xilol dan Toksisitasnya**

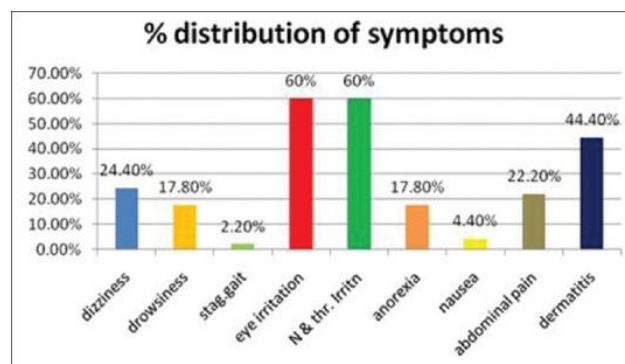
Xilol merupakan reagen yang paling sering digunakan sebagai agen *clearing*. Xilol menghasilkan *clearing* yang jernih sehingga memberikan hasil sebuah sediaan histologis yang baik. Namun, xilol memiliki derajat toksisitas yang amat tinggi. Selain digunakan pada proses *clearing* dan *dehidrasi*, xilol juga digunakan dalam proses deparafinasi dan

*coverslipping*. Hal tersebut menjadikan xilol reagen yang sangat dibutuhkan dalam pembuatan sediaan histologis. Sebagian besar bahan kimia pada laboratorium histologi bersifat iritan yang mampu menimbulkan iritasi pada mata, kulit dan saluran pernapasan. Bahan kimia seperti kloroform, formaldehid, nikel klorat dan lain-lain menyebabkan kematian dalam konsentrasi tertentu jika tertelan, kontak dengan kulit dan terhirup (Alwahaibi *et al.*, 2018). Paparan xilol dapat mempengaruhi kesehatan, baik akut (<14 hari) maupun kronik (365 hari). Tipe dan derajat keparahan efek toksik xilol bergantung kepada beberapa faktor, yaitu jumlah reagen yang terpapar serta lama waktu paparan (Bordoloi, 2018).



**Gambar 1.1.** Struktur Kimia Xilol  
*Sumber : (Nerissa, 2009)*

Penelitian membuktikan bahwa pekerja yang terkena paparan xilol menunjukkan beberapa gangguan kesehatan yang bersifat sistemik seperti iritasi pada mata, hidung dan tenggorokan, sakit perut, dermatitis, serta gangguan sistem saraf pusat seperti pusing dan mengantuk (Rajan *et al.*, 2019). Pekerja yang terkena paparan toluena dan xilol juga memiliki risiko yang tinggi untuk terkena *Raynaud's phenomom* yaitu suatu jenis kondisi gangguan sistem vaskular (Ramamoorthy *et al.*, 2016).



**Gambar 1.2.** Toksisitas Xilol  
(Rajan *et al.*, 2019)

### 2.3 Minyak Biji Anggur (*Grapeseed Oil*)

Biji anggur mengandung minyak dengan kandungan sebesar 10-20%, yang mengandung asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat dan asam oleat. Selain itu, minyak biji anggur juga mengandung asam lemak jenuh seperti asam palmitat dan asam stearat dalam kadar 10-14,4%. Sebagian besar kandungan minyak biji anggur terdiri dari asam lemak tak jenuh, seperti asam oleat, linoleat, EPA, dan DHA (Setyawardhani *et al.*, 2020). Minyak biji anggur memiliki sifat tahan lama dan tidak mudah teroksidasi karena mengandung senyawa antioksidan. Oleh karena itu, minyak biji anggur sering digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, kuliner, dan tujuan kesehatan lainnya. Minyak biji anggur termasuk dalam kategori minyak non-edible dan tidak bersaing dengan minyak pangan seperti minyak sawit. Kandungan dalam minyak biji anggur meliputi 75% asam linoleat, 15% asam oleat, 6% asam palmitat, 3% asam stearat, dan 1% asam linolenat (Lubis, 2021; Setyawardhani *et al.*, 2020).

Buah anggur yang digunakan dalam pembuatan minyak biji anggur merupakan jenis anggur hijau (*Vitis vinifera*) yang umumnya diperoleh dengan menggunakan metode *cold-pressed* untuk mengekstrak biji anggur. Metode *cold-pressed* ini dinilai sederhana karena tidak melibatkan zat kimia ataupun proses pemanasan, tetapi memasukkan biji ke alat pengepres, lalu ditekan hingga menghasilkan minyak dan ampas yang



tidak tercampur. Pelarut yang dapat digunakan di yaitu air atau alkohol rantai pendek seperti etanol dan methanol pada produksi konsentrat asam lemak tak jenuh dengan metode fraksinasi kompleksasi urea (Setyawardhani *et al.*, 2020).

#### 2.4 Penilaian Gambaran Mikroskopis Jaringan

Sediaan diamati pada mikroskop dengan perbesaran 40X menggunakan 5 lapang pandang yang berbeda dan 10X untuk melihat keseragaman warna. Parameter yang diamati pada setiap lapang pandang meliputi inti sel, sitoplasma, batas antar sel dan keseragaman warna pada preparat. Penilaian terhadap preparat dilakukan dalam bentuk skor

**Tabel 1.** Kriteria Penilaian Gambaran Mikroskopis

No.	Struktur	Deskripsi	Kualitas	
			Nilai	Keterangan
1.	Inti sel	Warna biru dan bentuk inti sel tidak jelas	1	Tidak Baik
		Warna biru dan bentuk inti sel kurang jelas	2	Kurang Baik
		Warna biru dan bentuk inti sel jelas	3	Baik
2.	Sitoplasma	Warna merah muda sitoplasma tidak jelas	1	Tidak Baik
		Warna merah muda sitoplasma kurang jelas	2	Kurang Baik
		Warna merah muda sitoplasma jelas	3	Baik
3.	Batas antar sel	Batas antar sel tidak jelas	1	Tidak Baik
		Batas antar sel kurang jelas	2	Kurang Baik
		Batas antar sel jelas	3	Baik
4.	Keseragaman warna	Warna tidak seragam	1	Tidak Baik
		Warna kurang seragam	2	Kurang Baik
		Warna seragam	3	Baik

Sumber : (Prasetiawan *et al.*, 2012)

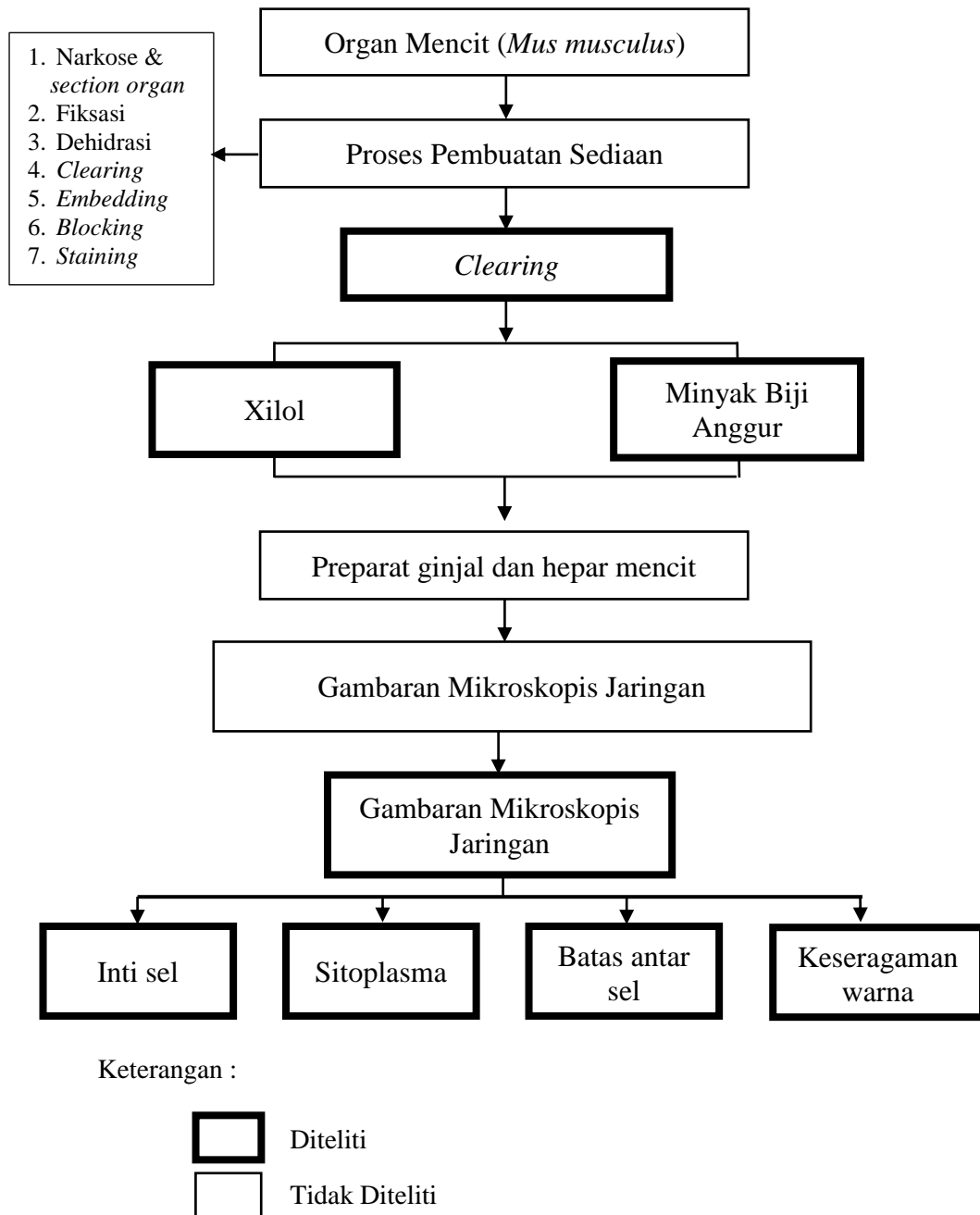
Masing-masing parameter tersebut diberikan skor (1) apabila warna pada inti sel, sitoplasma, batas antar sel dan keseragaman warna preparat tidak baik. Skor (2) apabila warna pada inti sel, sitoplasma, batas antar sel, dan keseragaman warna preparat kurang baik. Skor (3) diberikan apabila warna pada inti sel, sitoplasma, batas antar sel, dan keseragaman warna preparat baik. Selanjutnya skor yang diperoleh dijumlahkan dengan kriteria sebagai berikut:

**Tabel 2.** Penilaian total preparat

No.	Deskripsi	Nilai
1.	Tidak baik	1-4
2.	Kurang baik	5-8
3.	Baik	9-12

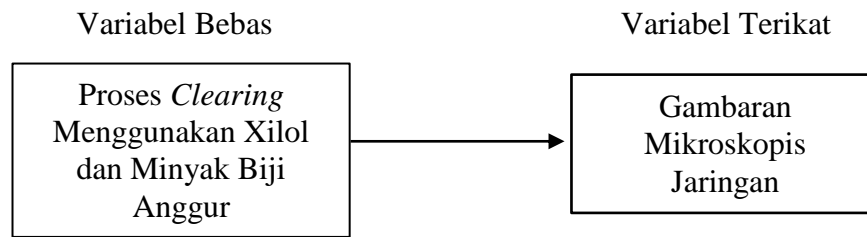
Sumber : (Prasetyawan et al., 2012)

## 2.5 Kerangka Teori



**Gambar 1.3.** Kerangka Teori Potensi Minyak Biji Anggur Sebagai Bahan Alternatif Pengganti Bahan Kimia Toksik Pada Proses *Clearing* Dalam Penelitian

## 2.6 Kerangka Konsep



**Gambar 1.3.** Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustaka, kerangka teori, dan kerangka konsep maka hipotesis penelitian ini adalah :

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

H<sub>1</sub> : Terdapat potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini dilakukan menggunakan eksperimental menggunakan deskriptif kualitatif dengan membandingkan dua kelompok yang berbeda. Kelompok pertama terdiri dari sampel yang melalui tahap clearing menggunakan xilol, sementara kelompok kedua terdiri dari sampel yang melalui tahap clearing menggunakan minyak biji anggur. Organ yang digunakan dalam kelompok eksperimental ini adalah ginjal dan hepar mencit (*Mus musculus*) (Khristian, 2018).

### **3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian**

#### **3.2.1 Waktu**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Mei 2023.

#### **3.2.2 Lokasi**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

### **3.3 Subjek Penelitian**

#### **3.3.1 Populasi Penelitian**

Populasi penelitian ini adalah kumpulan preparat dari sediaan jaringan yang telah dilakukan proses pembuatan sediaan. Preparat sediaan jaringan tersebut melalui tahapan proses fiksasi, dehidrasi, *clearing* menggunakan xilol dan minyak biji anggur, *embedding*, *blocking*, pematangan serta *staining* dengan *hematoxylin eosin*.

### 3.3.2 Sampel Penelitian

Penentuan sampel pada penelitian ini yaitu hasil pengamatan sediaan jaringan mencit yang telah dilakukan proses pembuatan sediaan hingga tahap akhir khususnya dibeningkan (*clearing*) menggunakan xilol dan minyak biji anggur selama masing-masing 1 jam. Banyak sampel yang akan digunakan yaitu 4 blok jaringan dengan masing-masing blok jaringan akan dilakukan pemotongan sebanyak 4 lapis potongan sehingga dari setiap blok akan diperoleh preparat dan akan didapatkan jumlah preparat sebanyak 16 preparat sediaan jaringan. Seluruh preparat akan dilihat menggunakan mikroskop dengan mengamati kriteria penilaian berdasarkan inti, sitoplasma, batas antar sel serta keseragaman warna pada struktur jaringan (Prasetyawati, 2021). Untuk menentukan jumlah sampel dari kedua kelompok tersebut, digunakan rumus federer sebagai berikut :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(2 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$r - 1 \geq 15$$

$$r \geq 16$$

keterangan : r = Jumlah Replikasi

t = Jumlah Kelompok

(Yulita, 2020)

Kriteria inklusi dan eksklusi sampel adalah sebagai berikut :

#### 3.3.2.1 Kriteria inklusi

1. Jaringan/organ ginjal dan hepar terfiksasi dengan baik.
2. Jaringan/organ ginjal dan hepar yang penampakan *gross specimen* nya dalam kondisi baik.

#### 3.3.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Jaringan/organ ginjal dan hepar yang potongannya tidak cukup untuk dijadikan sediaan histologis

2. Jaringan/organ ginjal dan hepar dari mencit mendapatkan perlakuan tertentu
3. Jaringan/organ ginjal dan hepar tidak terfiksasi dengan baik (Prasetyawati, 2021)

### **3.4 Identifikasi Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari dua jenis, yaitu:

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah penggunaan xilol dan minyak biji anggur (*grapeseed oil*) pada proses *clearing* pembuatan preparat.

#### **3.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kualitas gambaran mikroskopis sediaan jaringan yang dilakukan *clearing* menggunakan xilol dan minyak biji anggur (*grapeseed oil*).

### 3.5 Definisi Operasional

Untuk memudahkan pelaksanaan penelitian ini dan membuat batasan agar penelitian tidak terlalu luas, maka dibuat definisi operasional sebagai berikut:

**Tabel 3.** Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	<i>Clearing</i>	Proses pembuatan jaringan histologi dengan menggunakan xilol dan minyak biji anggur untuk menjernihkan jaringan dari berbagai komponen yang dapat mengganggu pewarnaan sediaan dengan cara menghilangkan alkohol dari jaringan	Xilol dan minyak biji anggur diletakkan pada gelas ukur yang diberi label	Hasil penggunaan xilol dan minyak biji anggur dalam proses <i>clearing</i> preparat. - Xilol = 0 - Minyak biji anggur = 1	Nominal
2.	Kualitas gambaran mikroskopis jaringan	Berdasarkan pengamatan mikroskopis sediaan yang dilakukan <i>clearing</i> menggunakan xilol dan minyak biji anggur. Diukur menggunakan tabel kriteria penilaian gambaran mikroskopis terhadap inti sel, sitoplasma, batas antar sel dan keseragaman warna pada struktur organ ginjal dan hepar mencit. Terdapat lima lapang pandang (Prasetyawan et al., 2012).	Menggunakan mikroskop perbesaran 100x dan 400x	Hasil evaluasi dinilai dengan kategori sebagai berikut: - tidak baik = nilai 1-4 - kurang baik = nilai 5-8 - baik = nilai 9-12 berdasarkan penilaian total preparat. (Prasetyawan et al., 2012)	Ordinal



## 3.6 Instrumen dan Teknik Pengambilan Data

### 3.6.1 Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Mikroskop, pisau *scalpel*, talenan, gunting bedah, pinset, *object glass*, wadah bermulut lebar, alat *tissue processor*, *base mold*, *cassete tissue*, mikrotom, spatel, pensil, kertas label, *hot plate* dan *timer*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Jaringan mencit, air, kloroform, parafin, xilol, minyak biji anggur, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan 100%), *aquadest*, NBF 10%, NaCl, *Hemayoxilin-Eosin*, *entellan*, kapas, label dan kertas saring.

### 3.6.2 Teknik Pengambilan Data

Teknik pengambilan data pada penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang berasal dari penelitian sendiri yang dimati secara langsung. Pengamatan dengan menggunakan mikroskop untuk melihat hasil gambaran mikroskopis mencit yang dilakukan *clearing* menggunakan xilol dan minyak biji anggur. Pada penelitian ini menggunakan 16 preparat untuk masing-masing organ. Data tersebut berisikan penilaian tentang gambaran mikroskopis preparat sediaan jaringan mencit yang meliputi pengamatan inti sel, sitoplasma, batas antar sel dan keseragaman warna pada struktur tubulus ginjal dan hepar kemudian data disajikan dalam bentuk deskriptif sehingga dapat mendeskripsikan kualitas sediaan jaringan ginjal dan hepar mencit yang dilakukan *clearing* menggunakan xilol dan minyak biji anggur.

### 3.6.3 Tabel Kriteria Penilaian

**Tabel 4.** Kriteria Penilaian Gambaran Mikroskopis Jaringan

No.	Struktur	Deskripsi	Kualitas	
			Nilai	Keterangan
1.	Inti sel	Warna biru dan bentuk inti sel tidak jelas	1	Tidak Baik
		Warna biru dan bentuk inti sel kurang jelas	2	Kurang Baik
		Warna biru dan bentuk inti sel jelas	3	Baik
2.	Sitoplasma	Warna merah muda sitoplasma tidak jelas	1	Tidak Baik
		Warna merah muda sitoplasma kurang jelas	2	Kurang Baik
		Warna merah muda sitoplasma jelas	3	Baik
3.	Batas antar sel	Batas antar sel tidak jelas	1	Tidak Baik
		Batas antar sel kurang jelas	2	Kurang Baik
		Batas antar sel jelas	3	Baik
4.	Keseragaman warna	Warna tidak seragam	1	Tidak Baik
		Warna kurang seragam	2	Kurang Baik
		Warna seragam	3	Baik

Sumber : (Prasetyawan et al., 2012)

**Tabel 5.** Penilaian total gambaran mikroskopis jaringan

No.	Deskripsi	Nilai
1.	Tidak baik	1-4
2.	Kurang baik	5-8
3.	Baik	9-12

Sumber : (Prasetyawan et al., 2012)

### 3.7 Analisis Data

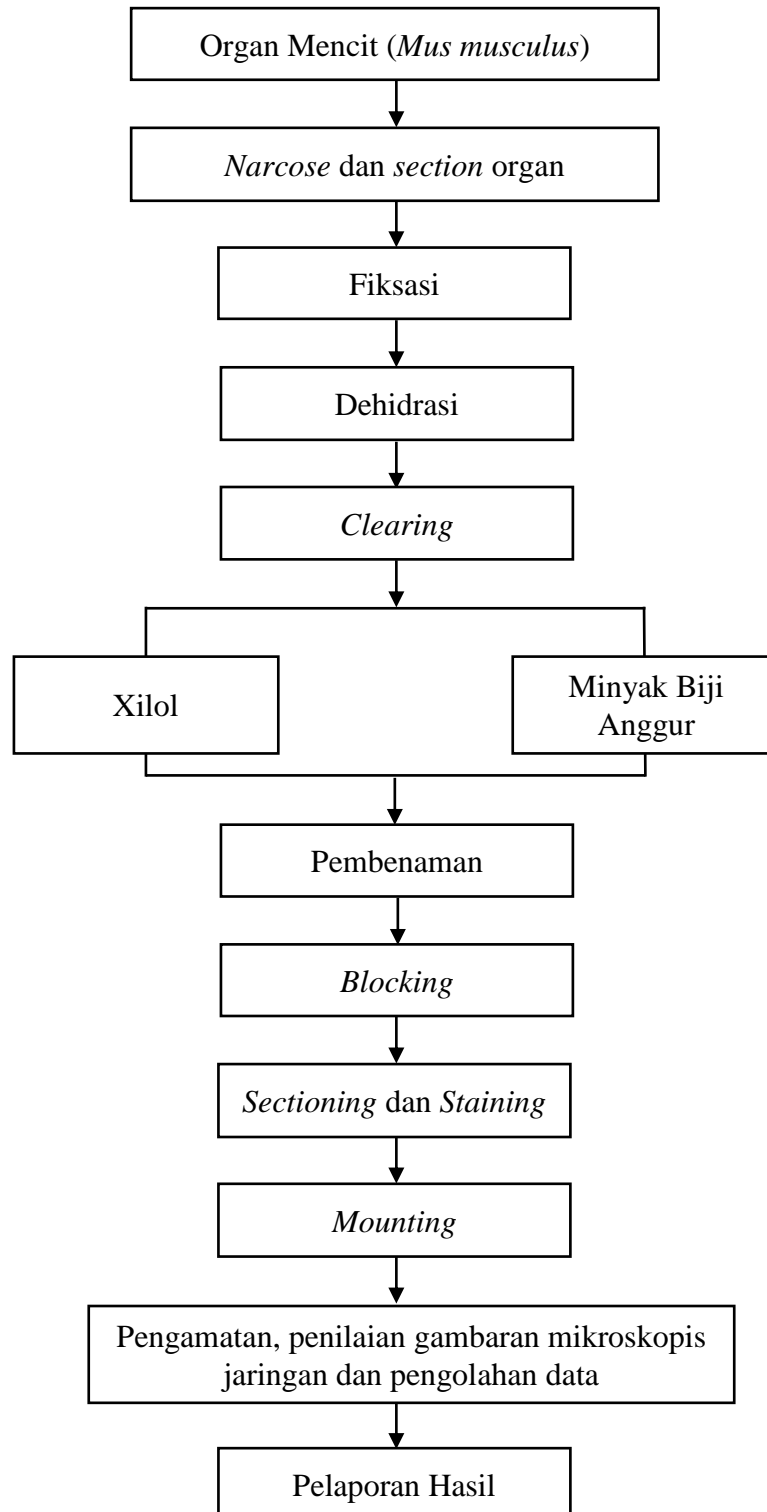
Pada penelitian ini dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena sampel yang digunakan  $<50$ . Setelah itu dilakukan uji homogenitas dengan *Lavene's test*. Apabila data terdistribusi normal dan variasi data homogen maka digunakan uji deskriptif kualitatif. Penelitian deskriptif bertujuan untuk menggambarkan secara sistematis hasil pengamatan kualitas sediaan organ ginjal dan hepar mencit (*Mus musculus*) yang dilakukan *clearing* menggunakan xilol dan minyak biji anggur (*grapeseed oil*) pada proses *clearing* secara mikroskopis.

### 3.8 Prosedur Penelitian

1. Melakukan tahapan narkose atau pembiusan hewan coba yang bertujuan memudahkan proses pembedahan menggunakan kloroform
2. Membedah tubuh hewan mencit (*Mus musculus*) dengan pisau *scalpel*
3. Mengambil organ ginjal dan hepar mencit (*Mus musculus*) dengan menggunakan gunting bedah dan pinset
4. Mencuci organ yang telah diambil dengan NaCl fisiologis
5. Memotong organ ginjal dan hepar mencit (*Mus musculus*) dengan ukuran 1x1x0.4 cm
6. Masukkan dan rendam organ yang sudah dipotong ke dalam larutan fiksatif NBF 10% selama 24 jam
7. Dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%) masing-masing selama 3 jam dan alkohol 100% selama 1 jam
8. Lakukan tahap pembersihan (*clearing*) menggunakan xilol I selama 1 jam dan xilol II selama 1 jam dan minyak biji anggur I selama 1 jam dan minyak biji anggur II selama 1 jam
9. Infiltrasi/*embedding* organ ginjal dan hepar menggunakan parafin I selama 1 jam dan parafin II selama 1 jam
10. Lakukan tahap *blocking* menggunakan parafin cair dan cetakan/*base mould*
11. Lakukan tahap pemotongan/*sectioning* jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikrometer

12. Lakukan tahap *floating* dengan cara memasukkan potongan pita jaringan ke dalam waterbath suhu 60°C kemudian masukkan object glass ke dalam waterbath lalu digerakkan ke arah pita parafin dan angkat perlahan sampai pita jaringan menempel pada bagian tengah object glass
13. Keringkan sediaan untuk menghilangkan sisa air yang masih terperangkap dibawah pita jaringan diatas hot plate suhu 37°C selama 1 jam
14. Lakukan tahap pewarnaan dengan *Hematoxylin-Eosin*
15. Lakukan tahap *mounting* preparat jaringan menggunakan *entellan*
16. Tempelkan label pada preparat jaringan
17. Lakukan pengamatan untuk menilai kualitas preparat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10x dan 400x lensa objektif.

### 3.9 Alur Penelitian



**Gambar 3.1.** Alur Penelitian

### 3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini memanfaatkan hewan coba sebagai sampel penelitian dengan menerapkan prinsip ketentuan dalam penelitian yaitu:

1. *Refinement*: memberikan rasa nyaman dan aman kepada hewan coba baik sebelum, selama dan setelah penelitian dengan memberi makan, tempat yang sesuai dan mengubur hewan coba yang telah diambil organnya.
2. *Replacement*: hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian keperluannya sudah diperhitungkan dari literatur maupun penelitian terdahulu untuk menjawab pertanyaan penelitian.
3. *Reduction*: menggunakan hewan coba dengan jumlah sedikit mungkin tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal (Ridwan, 2013).

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung berdasarkan Surat Persetujuan Etik dengan nomor surat 1568/UN26.18/PP.05.02.00/2023.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN & SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil pembahasan dan penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat potensi minyak biji anggur sebagai bahan alternatif pengganti bahan kimia toksik pada proses *clearing* dalam penelitian.

#### **5.2 Saran**

Berikut saran dari hasil penelitian :

1. Pada proses pemotongan blok jaringan diharapkan agar dalam keadaan dingin atau tenang sehingga blok jaringan tidak pecah saat dipotong dengan mikrotom
2. Setelah melakukan pemotongan, pencucian jaringan dalam larutan NaCl fisiologis harus maksimal agar tidak menyisakan artifak pra-fiksasi berupa kumpulan eritrosit yang masih terlihat pada sediaan yang dapat mempengaruhi kualitas sediaan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alwahaibi N, Aljaradi S, Alazri H. 2018. Alternative to xylene as a clearing agent in histopathology. *Journal of Laboratory Physicians*, 10(02), 189-193.
- Ananthalakshmi, Ravi S. 2016. Natural alternatives for chemicals used in histopathology lab- A literature review. *J Clinical and Diagnostic Research*. 10(11).
- Ariyadi T, Suryono H. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave Dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *Jlabmed*, 1(1).
- Bordoloi B. 2018. Xylene - Its Health Hazards and Biocompatible. 7(15), 1017–1027.
- Cahyana GH, Sukrisna A, Mulyani T. 2015. Hubungan Paparan Xylene Dan Methyl Hippuric Acid Pada Pekerja Informal Pengecatan Mobil Di Karasak, Bandung. *Creative Research Journal*, 1(1), 79–94.
- Chandraker R, Rathod VC, Chandraker NK, Pundir S, Dixit S, Desai V. 2018. Comparison Between Xylene And Coconut Oil In Tissue Processing. *Mod Med Lab J*. 2(1): 96-99.
- Choudhary S, Saxena A, Das A, Gulati G, Khare A, Prasad KD. 2016. Artefact & Classification. *Saudi J Med Pharm Sci*, 2(6), 141-5.
- Digala P, Bollu D, Karthicka C, Vincy SJ, Selvam R, Kandaswamy S. 2013. Alternative To Reduce Occupational Hazards For Paramedical Staffs In Histopathology Department. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. Vol 12 (5): 05-12
- Eroschenko VP. 2010. Atlas Histologi Difiore: dengan Korelasi Fungsional, Ed. 11. Jakarta: EGC
- Faridah F, Ariyadi T, Nuroini F. 2019. Perbedaan Densitas Warna Inti dan Sitoplasma Preparat Ginjal Marmut pada Proses Clearing Menggunakan Xylol dengan Minyak Gandapura (*Gaultheria Fragrantissima*) pada Pembuatan Sediaan Jaringan. Pada Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus Vol. 2.



- Intan FS. 2018. Korelasi Antara Ekspresi Reseptor Estrogen $\alpha$  Dan Ukuran Tumor Pada Karsinoma Payudara Tipe Duktal Invasif Di NTB [disertasi], Mataram: Universitas Mataram.
- Khan MIR, Asgher M, Khan NA. 2014. Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 67-74.
- Khristian E. 2018. Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (PINTAMAS 1)*, 1(1), 638–645.
- Khristian E, Inderiati D. 2017. *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis*.
- Lisowski A. 2019. *Science of Tissue Processing*. Leicia Biosystems, 1–23.
- Lubis RD. 2021. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Minyak Biji Anggur terhadap Karakterisasi Fisik Sediaan Lip Balm. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Mentari AB, Kholosoh SN, Hidayah TN, Hasbullah UHA. 2019. Pembuatan Kopi dari Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn) dan Aktivitas Antioksidannya. *Ilmu Pangan Dan Hasil Pertanian*, 1, 94.
- Mescher AL. 2016. *Histologi Dasar Junqueira*. Jakarta:ECG.
- Nuralim ER, Rahayu ID, Bekti RS. 2017. Analisis Perbandingan Fiksasi menggunakan Larutan Formalin dan Larutan Carnoy pada Somit, Neural Tube, dan Vaskular Embrio Ayam Usia 48 Jam dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *Majalah Kesehatan FKUB*. Vol 4. No 1.
- Ofusori DA, Ayoka AO, Adeyo OA, Adewole SO. 2009. Mixture of Kerosene and Xylene: A Contribution to Clearing Agents. *Int. J. Morphol.*, 27(1):211-218
- Perceka ML. 2011. Analisis Deskriptif Kemunduran Mutu Kulit Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Selama Penyimpanan Suhu Chilling Melalui Pengamatan Histologis.
- Prahanarendra, G. 2015. *Gambaran Histologi Organ Ginjal dan hepar, Hepar, dan Prankreas Tikus Sprague Dawley dengan Pewarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Jakarta:UIN Syarif Hidayatullah.
- Prasetyawati ET. 2021. *Gambaran Mikroskopis Sediaan Jaringan Ginjal Mencit (Mus Musculus) Yang Dilakukan Clearing Menggunakan Xylol Dan Minyak Gandapura (Gaultheria Fragrantissima) Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin*.

- Prasetiawan E, Sabri E, Ilyas S. 2015. Gambaran Histologis Hepar Mencit (*Musculus Strain DDW*) Setelah Pemberian Ekstrak N-Heksan Buah Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium DC.*) Selama Masa Pra Implantasi dan Pasca Implantasi. *Saintia Biologi*, 1 (1), 40-45
- Premalatha BR, Patil S, Rao RP, Indu M. 2013. Mineral Oil—A Biofriendly Substitute for Xylene in Deparaffinization: A Novel Method. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 14(2):281-286
- Purdie GL, Purdie DJ, Harrison AA. 2011. Raynaud's Phenomenon In Medical Laboratory Workers Who Work With Solvents. *The Journal Of Rheumatology*: 38:9
- Rahmawati S, Wulan AJ, Utami N, Putra BDD. 2016. Preliminary Study: The Potency Of Vegetable Cooking Oil As Alternative Clearing Agent For. *Jurnal International Conference on Agromedicine and Medical Sciences*. Bandar Lampung: Universitas Lampung
- Rai, R., Bhardwaj, A., Verma, S. 2016. Tissue Fixatives: A Review. *Int J Pharma Drug Anal*; 4: 183- 187.
- Rajan ST, Malathi N, Rao KB, Jacob TE. 2019. Toxicity of xylene in occupationally exposed workers: A high-performance liquid chromatography analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(2), 303.
- Ramamoorthy A, Ravi S, Jeddy N, Thangavelu R, Janardhanan S. 2016. Natural Alternatives for Chemicals Used in Histopathology Lab- A Literature Review. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*, 1, EE01–EE04.
- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *J Indon Med Assoc*, 63(3), 112-116.
- Setyawardhani DA, Laras DS, Prasetya KJ. 2020. Lemak Omega dari Minyak Biji Anggur. *Journal of Chemical Process Engineering*, 5(2655), 1–8.
- Sermadi W, Prabhu S, Acharya S, Javali SB. 2014. Comparing the efficacy of coconut oil and xylene as a clearing agent in the histopathology laboratory. *J Oral Maxillofac Pathol*. 18 (Suppl 1): 49- 53
- Subowo. 2009. *Histologi Umum*. Jakarta: Sagung Seto.
- Sumanto. 2014. *Belajar Histoteknologi untuk Pemula*. Semarang: IAKIS.
- Suprianto A. 2014. Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital Dengan Metode Konvensional Pada Kualitas Gambaran Histologis Hepar Tikus [Disertasi]. Pontianak: Tanjungpura University.

- Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. 2018. Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book. Elsevier health sciences.
- Udonkang M, Eluwa M, Ekanem A, Sharma TB, Asuquo OR, Akpantah AO. 2014. Bleached palm oil as substitute for xylene in histology. *J Pharm Clin Res*, 8, 8-17.
- Waheed U. 2012. *Histotechniques Laboratory Techniques In Histopathology : A Handbook For Medical Technologist*. Lap Lambert.
- Yulita M. 2020. *Gambaran Makroskopis Jaringan Hepar Tikus (Rattus Norvegicus) Yang Diproses Menggunakan Minyak Cengkeh (Syzigium Aromaticum) Sebagai Alternatif Larutan Clearing [Disertasi]*. Sukuharjo: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.