

Komparasi Efektivitas Minyak Pinus dan Minyak Alpukat Sebagai Pengganti Xylene Dalam Proses Penjernihan (*Clearing*) Histologi

Joy Miracle Tumigolung Kawer¹, Yessica Stefanie Cheriananda², Margareth Tumansery³, Alessandro Stefano Kamengon⁴, Diana Intan Gabriella Lusiana^{5*}, Fransisca Probo Setyoningrum⁶

Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan, Banten, Indonesia^{1,2,3,4,5,6}

*Email Korespondensi: diana.lusiana@uph.edu

ARTICLE INFO

Article History:

Submitted 16-July-2026

Received 22-July-2026

Published 23-July-2026

Keywords:

Pine Oil;

Avocado Oil;

Xylene;

Histological Clearing;

Quality Of The Specimen;

Kata Kunci:

Minyak pinus, minyak alpukat, xylene, clearing histologi, kualitas preparat

ABSTRACT

Xylene is a standard clearing agent in histological tissue processing; however, its use poses a toxicity risk to the health of laboratory staff, making it necessary to find safer natural alternatives, such as pine oil and avocado oil. This experimental laboratory study aimed to compare the effectiveness of pine oil and avocado oil as xylene substitutes in improving the quality of mouse liver histological preparations. A total of twenty-seven mouse liver tissue sections were divided into three treatment groups: a xylene control group, an avocado oil group, and a pine oil group. The sections were then stained using the hematoxylin-eosin method and evaluated using a scoring system that assessed nuclear chromatin integrity, cytoplasmic contrast, preservation of tissue architecture, and microtome section quality. The results showed that pine oil achieved the highest total score, with mechanical performance comparable to xylene and superior preservation of cellular structure, while avocado oil demonstrated good cytoplasmic contrast and nuclear integrity but had limitations in section quality due to its high viscosity. Xylene itself excelled in ease of sectioning but resulted in poor nuclear integrity and cytoplasmic contrast due to repeated use. This study concludes that pine oil is the most effective and environmentally friendly alternative clarifying agent, while avocado oil still requires further process optimization before it can be widely recommended.

ABSTRAK

Xylene merupakan bahan penjernih baku dalam proses pemrosesan jaringan histologi, namun penggunaannya menimbulkan risiko toksisitas bagi kesehatan tenaga laboratorium sehingga diperlukan bahan pengganti alami yang lebih aman, seperti minyak pinus dan minyak alpukat. Penelitian eksperimental laboratorium ini bertujuan membandingkan efektivitas minyak pinus dan minyak alpukat sebagai bahan penjernih pengganti xylene terhadap kualitas preparat histologi hepar mencit. Sebanyak dua puluh tujuh preparat jaringan hepar mencit dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok xylene sebagai kontrol, kelompok minyak alpukat,

dan kelompok minyak pinus, kemudian diwarnai dengan metode Hematoksilin Eosin dan dinilai menggunakan sistem skoring meliputi integritas kromatin inti sel, kontras sitoplasma, preservasi arsitektur jaringan, dan kualitas pemotongan mikrotom. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak pinus memperoleh skor total tertinggi dengan kinerja mekanis yang setara xylene serta preservasi struktur sel yang unggul, sedangkan minyak alpukat menunjukkan kontras sitoplasma dan integritas inti sel yang baik namun memiliki keterbatasan pada kualitas pemotongan akibat viskositas yang tinggi. Xylene sendiri unggul dalam kemudahan pemotongan namun menghasilkan integritas inti sel dan kontras sitoplasma yang rendah akibat pemakaian berulang. Penelitian ini menyimpulkan bahwa minyak pinus merupakan bahan penjernih alternatif paling efektif dan ramah lingkungan, sedangkan minyak alpukat masih memerlukan optimasi proses lebih lanjut sebelum dapat direkomendasikan secara luas.

PENDAHULUAN

Rangkaian tahapan pembuatan preparat histologi saling berkesinambungan, mulai dari fiksasi, dehidrasi, clearing (dealkoholisasi), impregnasi, embedding, pemotongan, hingga pewarnaan jaringan (Suvarna et al., 2019). Tahap clearing menempati posisi krusial dalam rangkaian tersebut, sebab tahap ini berfungsi menggantikan alkohol yang masih tersisa di dalam jaringan setelah dehidrasi dengan cairan yang bersifat miscible baik terhadap alkohol maupun parafin cair, sehingga parafin dapat berinfiltrasi secara sempurna ke dalam jaringan pada tahap impregnasi berikutnya. Xylene telah digunakan secara luas sebagai clearing agent baku di laboratorium histoteknologi dan patologi anatomi, karena bahan ini mampu menjernihkan jaringan secara optimal, mempercepat proses infiltrasi parafin, serta menghasilkan kualitas morfologi seluler yang tajam saat diamati di bawah mikroskop cahaya.

Penggunaan xylene secara rutin, meskipun demikian, menyimpan permasalahan serius yang tidak dapat diabaikan. Xylene tergolong senyawa hidrokarbon aromatik yang mudah menguap dan mudah terbakar, dan senyawa ini terbukti bersifat toksik bagi manusia baik melalui paparan jangka pendek maupun jangka panjang, dengan efek toksik yang dilaporkan mencakup gangguan pada sistem saraf pusat, hati, ginjal, serta saluran pernapasan (Niaz et al., 2015). Iritasi pada mata, kulit, dan saluran pernapasan, gangguan pada sistem saraf pusat dan perifer berupa sakit kepala, pusing, dan gangguan koordinasi, hingga potensi karsinogenik dapat ditimbulkan oleh paparan xylene pada tenaga laboratorium yang terpapar secara berulang, mengingat toluena dan xylene banyak digunakan di laboratorium histologi, hematologi, mikrobiologi, dan sitologi sebagai pelarut untuk memfiksasi spesimen jaringan dan membilas pewarna. Tinjauan komprehensif terbaru mengenai alternatif xylene yang lebih aman dan berkelanjutan juga menegaskan bahwa xylene tetap disukai penggunaannya dalam histopatologi karena menghasilkan diagnosis yang akurat, namun risiko kesehatan akibat emisi toksiknya mendorong berbagai peneliti untuk terus mengidentifikasi bahan pengganti yang lebih terjangkau, ramah lingkungan, dan aman digunakan dalam rutinitas laboratorium (Devendrababu et al., 2026). . Xylene, selain aspek toksisitas, juga tergolong bahan kimia dengan harga yang relatif mahal dan memerlukan

penanganan limbah khusus agar tidak mencemari lingkungan, sehingga beban tersendiri ditanggung oleh laboratorium histoteknologi akibat ketergantungannya terhadap bahan ini, terutama bagi institusi pendidikan dan laboratorium dengan keterbatasan anggaran.

Urgensi pencarian bahan pengganti xylene semakin menguat seiring meningkatnya kesadaran akan keselamatan dan kesehatan kerja (K3) di lingkungan laboratorium medis. Tenaga laboratorium histoteknologi merupakan kelompok pekerja yang berisiko tinggi terpapar xylene secara kontinu, mengingat frekuensi penggunaannya yang tinggi dalam rutinitas pemrosesan jaringan sehari-hari. Berbagai penelitian yang berupaya menemukan bahan alami, khususnya minyak nabati dan minyak atsiri yang memiliki sifat pelarut serupa xylene namun lebih aman bagi kesehatan manusia dan lingkungan, lahir akibat kondisi tersebut. Efektivitas berbagai minyak nabati sebagai clearing agent alternatif telah diuji, di antaranya minyak kelapa yang terbukti mampu membersihkan jaringan secara efektif dan menghasilkan kualitas preparat yang mendekati xylene meskipun memerlukan waktu clearing yang lebih lama (Tanwar et al., 2022); minyak cedar yang terbukti efektif, ramah lingkungan, dan aman digunakan sebagai clearing agent dalam prosedur pewarnaan hematoksin eosin (Thamilselvan et al., 2021); serta minyak terpenin dan minyak kerosin yang mampu menggantikan xylene secara menyeluruh pada jaringan rongga mulut tanpa mengurangi kualitas pewarnaan hematoksin eosin secara bermakna (Singh et al., 2023). Berbagai minyak nabati seperti minyak kelapa, minyak kacang tanah, minyak zaitun, minyak sawit, dan minyak jagung juga terbukti, dalam penelitian lain, dapat digunakan sebagai clearing agent tanpa memengaruhi komposisi jaringan histologis, sekaligus lebih terjangkau dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi penggunaannya (D'Azzuri et al., 2023).

Minyak pinus, di antara berbagai minyak nabati yang telah diteliti, menunjukkan hasil yang menjanjikan sebagai clearing agent alternatif. Penelitian komparatif yang mengevaluasi minyak wortel, minyak zaitun, minyak pinus, dan minyak mawar dibandingkan dengan xylene menemukan bahwa keempat jenis minyak tersebut mampu menjernihkan jaringan secara setara dengan xylene, dengan keunggulan pada kejelasan detail inti sel, sitoplasma, serta kualitas pewarnaan ditunjukkan oleh minyak pinus dibandingkan ketiga minyak lainnya (Jyostna et al., 2024). Keunggulan minyak pinus tersebut diduga berkaitan dengan kandungan senyawa terpenoid, khususnya alfa-pinena dan beta-pinena serta turunan alkohol terpen seperti terpineol, yang secara konsisten dilaporkan sebagai komponen dominan pada berbagai jenis minyak atsiri pinus (Gopinath & Yadav, 2026), dan yang bersifat larut baik dalam alkohol maupun parafin sehingga proses dealkoholisasi dan infiltrasi parafin dapat didukung secara efisien. Minyak alpukat (*Persea americana*), di sisi lain, hingga saat ini belum banyak dikaji secara khusus sebagai clearing agent dalam histoteknologi, meskipun secara komposisi kimiawi minyak ini memiliki karakteristik yang berpotensi mendukung fungsi tersebut. Asam lemak tak jenuh tunggal, terutama asam oleat, diketahui mendominasi komposisi minyak alpukat dengan kandungan yang dapat mencapai lebih dari separuh total komposisi asam lemaknya, disertai kandungan fitosterol dan tokoferol yang cukup tinggi (Nasri et al., 2023). Karakteristik minyak dengan rantai asam lemak tak jenuh yang dominan tersebut membuka peluang bagi minyak alpukat untuk memiliki sifat kelarutan dan daya penetrasi terhadap parafin yang sebanding dengan minyak nabati lain yang telah terbukti

efektif sebagai pengganti xylene, sekaligus menawarkan nilai tambah berupa ketersediaan bahan baku yang melimpah di Indonesia sebagai negara penghasil alpukat.

Kesenjangan penelitian (research gap) yang jelas tampak berdasarkan uraian tersebut, yaitu kajian komparatif yang secara khusus mengevaluasi dan membandingkan efektivitas minyak pinus dan minyak alpukat sebagai clearing agent pengganti xylene dalam satu rancangan penelitian yang sama belum tersedia. Gambaran yang lebih komprehensif mengenai jenis minyak nabati mana yang lebih unggul serta lebih layak direkomendasikan sebagai clearing agent alternatif yang aman, ekonomis, dan mudah diperoleh, khususnya bagi laboratorium histoteknologi di daerah dengan keterbatasan akses terhadap bahan kimia xylene berkualitas baku, akan diperoleh melalui perbandingan langsung antara kedua jenis minyak dengan karakteristik kimiawi yang berbeda tersebut – yaitu minyak pinus yang kaya senyawa terpenoid dan minyak alpukat yang kaya asam lemak tak jenuh tunggal. Rasionalisasi dilakukannya penelitian ini didasari oleh kondisi tersebut, yakni untuk menjawab kebutuhan mendesak akan clearing agent alternatif yang lebih aman bagi kesehatan tenaga laboratorium tanpa mengorbankan kualitas diagnostik preparat histologi yang dihasilkan.

Permasalahan penelitian yang diajukan dalam artikel ini adalah apakah efektivitas clearing yang setara dengan xylene pada proses pemrosesan jaringan histologi mampu diberikan oleh minyak pinus dan minyak alpukat, serta jenis minyak manakah di antara keduanya yang menghasilkan kualitas preparat histologi terbaik ditinjau dari aspek kejernihan jaringan, kemudahan pemotongan, morfologi seluler, dan kualitas pewarnaan. Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini, berdasarkan telaah pustaka yang telah diuraikan, adalah kemampuan clearing yang tidak berbeda bermakna dengan xylene dimiliki oleh minyak pinus dan minyak alpukat, dengan dugaan awal bahwa hasil yang relatif lebih unggul akan ditunjukkan oleh minyak pinus dibandingkan minyak alpukat, mengingat sifat kelarutannya yang lebih dekat dengan karakteristik pelarut organik konvensional, sebagaimana ditunjukkan oleh penelitian-penelitian terdahulu mengenai efektivitas minyak pinus dibandingkan minyak nabati lainnya (Jyostna et al., 2024).

Penulisan artikel ini bertujuan untuk mengkaji dan membandingkan secara ilmiah efektivitas minyak pinus dan minyak alpukat sebagai bahan pengganti xylene pada tahap clearing dalam proses pemrosesan jaringan histologi, dengan parameter penilaian meliputi kejernihan jaringan, kemudahan pemotongan blok parafin, serta kejelasan morfologi inti dan sitoplasma sel. Penelitian ini, sebagai rencana pemecahan masalah, dirancang menggunakan pendekatan eksperimental laboratorium dengan membandingkan tiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol yang diproses menggunakan xylene, kelompok yang diproses menggunakan minyak pinus, dan kelompok yang diproses menggunakan minyak alpukat, pada sampel jaringan yang telah difiksasi dan didehidrasi dengan prosedur baku yang identik, sehingga variabel perlakuan yang diuji hanya terbatas pada jenis clearing agent yang digunakan. Bukti ilmiah yang dapat menjadi dasar rekomendasi penggunaan clearing agent alternatif yang lebih aman, ekonomis, dan berkelanjutan bagi laboratorium histoteknologi, khususnya di lingkungan pendidikan dan pelayanan kesehatan dengan keterbatasan sumber daya, diharapkan dapat disediakan oleh penelitian ini secara lebih luas, tanpa mengurangi

akurasi dan kualitas diagnostik preparat histologi yang dihasilkan. Kontribusi nyata bagi pengembangan praktik histoteknologi yang lebih aman bagi tenaga laboratorium serta lebih ramah lingkungan diharapkan dapat diberikan oleh hasil penelitian ini, dengan tercapainya tujuan tersebut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan posttest only control group design yang bertujuan untuk membandingkan efektivitas minyak pinus dan minyak alpukat sebagai bahan clearing pengganti xylene terhadap kualitas preparat histologi hepar mencit (*Mus musculus*). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sitologi Histologi, Mochtar Riady Institute of Nanotechnology pada tanggal 9-25 bulan Juni 2026. Objek penelitian yaitu menggunakan jaringan hepar mencit yang diproses dengan menggunakan metode histoteknik rutin dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Variabel bebas penelitian ini yaitu dengan jenis bahan clearing yang terdiri atas xylene sebagai kontrol, minyak alpukat, serta minyak pinus. Variabel terikat yaitu kualitas preparat histologi yang meliputi kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma, keseragaman intensitas pewarnaan, dan juga keutuhan struktur jaringan. Variabel kontrol penelitian ini meliputi jenis jaringan, ukuran potongan jaringan, lama fiksasi, tahapan dehidrasi, suhu impregnasi parafin, ketebalan irisan jaringan, metode pewarnaan, dan juga kondisi pengamatan mikroskopis. Tahapan clearing adalah suatu proses penggantian alkohol absolut dalam jaringan dengan zat yang bersifat miscible terhadap parafin sehingga infiltrasi parafin berlangsung optimal dan kualitas preparat histologi tetap terjaga (Bright et al., 2024).

Sampel penelitian berupa jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) sehat yang dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, yang terdiri atas kelompok kontrol yaitu dengan menggunakan xylene, kelompok perlakuan pertama dengan menggunakan minyak alpukat, serta kelompok perlakuan kedua dengan menggunakan minyak pinus sebagai bahan clearing. Jumlah replikasi ditentukan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$, dengan t sebagai jumlah kelompok perlakuan dan r sebagai jumlah replikasi. Berdasarkan tiga kelompok perlakuan diperoleh jumlah replikasi minimal sebanyak sembilan pada setiap kelompok, maka total sampel penelitian ini berjumlah 27 preparat.

Peralatan utama yang digunakan meliputi microtome, water bath, mikroskop cahaya dengan pembesaran hingga $1000\times$ menggunakan minyak imersi, serta peralatan gelas laboratorium. Bahan yang digunakan meliputi jaringan hepar mencit, Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%, serta absolut), xylene, minyak alpukat, minyak pinus, parafin dengan titik leleh 56°C , hematoksin, eosin, media perekat, dan media mounting. Penggunaan NBF sebagai fiksatif dan parafin sebagai media infiltrasi mengikuti prosedur histoteknik rutin yang telah direkomendasikan agar dapat mempertahankan morfologi jaringan sebelum dilakukan pewarnaan HE.

Seluruh jaringan difiksasi dengan menggunakan NBF 10% selama 24 jam, kemudian diproses melalui tahapan dehidrasi yaitu menggunakan alkohol bertingkat. Setelah proses dehidrasi selesai, sampel dibagi sesuai dengan kelompok perlakuan untuk menjalani proses

clearing dengan menggunakan xylene pada suhu ruang selama 1 jam dengan 3 kali pengulangan, serta minyak alpukat dan minyak pinus pada suhu 60°C selama 45 menit dengan 2 kali pengulangan dengan bantuan waterbath. Tahap selanjutnya yaitu tahapan impregnasi dengan menggunakan parafin cair pada suhu 56°C, dilanjutkan dengan proses embedding hingga terbentuk blok parafin. Blok parafin kemudian akan dipotong menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 4–5 µm, lalu ditempelkan diatas kaca objek, serta akan diwarnai dengan menggunakan metode Hematoxylin-Eosin sesuai prosedur histologi rutin. Preparat yang telah diwarnai selanjutnya diamati menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 1000× untuk menilai kualitas preparat berdasarkan kejernihan preparat, kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma, keseragaman pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan. Penilaian dilakukan menggunakan lembar observasi yang telah ditetapkan sebagai dasar evaluasi efektivitas bahan clearing (Sofyanita et al., 2022; Bright et al., 2024).

Tabel 1: Matriks Sistem Penilaian Histomorfologi (Sistem Skoring)

Skor Numerik	Integritas Kromatin Inti Sel	Kontras Sitoplasma (H&E)	Preservasi Arsitektur Jaringan	Kualitas Pemotongan (Microtomy)
Skor 4 (Sangat Baik / Excellent)	Batas inti sel sangat tajam dan jelas, jaringan kromatin terlihat jelas dan tidak pudar.	Diferensiasi warna <i>pink</i> /merah yang cerah, kontras tajam, inti biru jelas, tidak ada kekeruhan.	Batas sel utuh, tidak ada pemisahan lapisan, atau pengerutan sel.	Pita jaringan terbentuk kontinu, tidak ada kerutan, garis pisau, atau fragmentasi jaringan.
Skor 3 (Baik / Good)	Batas inti sel jelas, sedikit penumpukan kromatin tetapi masih mudah teramati.	Penyerapan zat warna baik, warna sitoplasma jelas dengan sedikit keputihan latar belakang.	Struktur terjaga dengan baik, penyusutan lokal minimal atau artefak yang sangat sedikit.	Pemotongan stabil, kompresi pita minimal atau retakan mikro jarang terjadi.
Skor 2 (Cukup / Fair)	Garis batas inti pudar atau kabur, detail kromatin buruk di sebagian besar bidang pandang.	Ikatan zat warna lemah, kontras pudat dan samar sehingga menyulitkan pengamatan batas sel.	Distorsi jaringan, terlihat vakuolisasi artifisial jelas atau pengelupasan lapisan sel.	Sulit dipotong, sering terjadi jaringan hancur, pecah, atau tanda goresan pisau yang persisten.
Skor 1 (Buruk / Poor)	Lisis inti parah, atau hilangnya definisi struktural kromatin secara total.	Kegagalan pewarnaan total, warna <i>pink</i> /biru tumpang tindih pengamatan sangat kabur.	Kerusakan struktur total, fragmentasi jaringan parah dan hilangnya batas-batas sel.	Sangat sulit dipotong utuh, jaringan pecah hancur, robek parah, atau blok terlepas dari lilin.

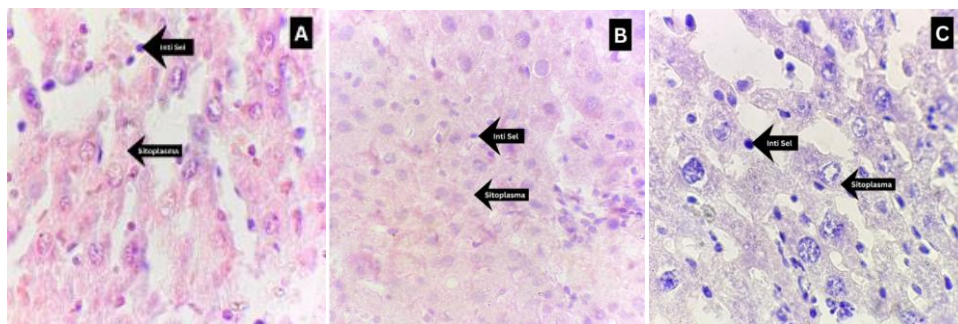
Sumber: Bright, O. A., et al. (2024). Clearing Properties Between Coconut Oil and Xylene in Histological Tissue Processing. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Perbandingan kualitas preparat histologi pada agen *clearing*.

	Minyak Alpukat	Xylene	Minyak Pinus
Integritas Kromatin Inti Sel	69,4%	38,8%	63,8%
Kontras Sitoplasma	86,1%	52,7%	72,7%
Preservasi Arsitektur Jaringan	86,1%	88,8%	97,2%
Kualitas Pemotongan (<i>Microtomy</i>)	66,6%	100%	100%
Nilai Keseluruhan	77%	68,7%	83,3%

Sumber: Data Penulis (2026)



Gambar 1. Gambaran Histologi Jaringan Hati Mencit dengan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (H&E). (A) Minyak Pinus, (B) Xylene, (C) Minyak Alpukat.

Sumber: Dokumentasi Penulis (2026)

Agan *clearing* yang paling umum digunakan merupakan xylene. Pada variabel percobaan xylene sebagai kontrol, *clearing* menggunakan xylene menunjukkan hasil yang maksimal yaitu 100% untuk keseluruhan sampel untuk kualitas pemotongan mikrotomi dan nilai sebesar 88,8% untuk preservasi arsitektur jaringan. Xylene memiliki viskositas yang paling rendah diantara seluruh agen *clearing* yang digunakan untuk mencari dan membandingkan alternatifnya. Sifat xylene yang memiliki daya larut yang tinggi memungkinkan pertukaran alkohol setelah dehidrasi secara cepat, sehingga memfasilitasi infiltrasi lilin parafin yang optimal ke dalam jaringan (Bright *et al.*, 2024). Namun, penggunaan xylene yang telah dipakai berulang kali dan konsentrasinya yang telah terkontaminasi banyak alkohol mengakibatkan nilai terendah sebesar 38,8% untuk integritas kromatin nukleus dan 52,7% untuk kontras sitoplasma. Proses *clearing*, yang kurang efektif menggunakan xylene ini mengakibatkan hasil jaringan yang sulit diamati struktur selnya sehingga mendapatkan nilai yang rendah dan dengan total nilai 68,7% untuk penilaian keseluruhannya. Hasil preparat yang tidak terwarnai pada perlakuan nomor 4 terjadi karena kegagalan proses deparafinisasi sehingga reagen pewarnaan tidak dapat menembus jaringan. Menurut S Kim Suvarna *et al.* (2013) proses menghilangkan lilin parafin dari slide yang gagal dapat mengganggu kemampuan untuk menembus jaringan dan dengan demikian dapat menghambat pengikatan warna dari reagen. Penggantian atau rotasi larutan reagen secara teratur disarankan agar tidak menyebabkan pewarnaan yang terlalu lemah atau negatif palsu.

Agan *clearing* kedua merupakan minyak alpukat yang menunjukkan keefektifan tinggi sebagai alternatif yang lebih ramah digunakan untuk operator karena tidak bersifat toksik. *Clearing* menggunakan minyak alpukat menghasilkan detail sitologi internal yang

sangat baik dan mendapatkan nilai 69,4% untuk integritas kromatin nukleus dan nilai tertinggi 86,1% untuk kontras sitoplasma yang tidak menunjukkan adanya kerusakan sel yang signifikan dengan penggunaan minyak alpukat sebagai agen *clearing*. Preservasi arsitektur jaringan memiliki nilai yang setara dengan xylene yaitu 86,1%. Namun, minyak alpukat menunjukkan keterbatasan yang signifikan dalam kualitas mikrotomi, dengan nilai terendah yaitu 66,6%. Total 9 blok jaringan yang telah disiapkan, 1 blok jaringan patah saat mikrotomi dan 1 blok jaringan yang retak ketika proses mikrotomi sehingga menghambat perolehan pita jaringan. Menurut studi dari Bright *et al.* (2024), minyak alami berviskositas tinggi dengan berat molekul lebih besar daripada xylene sering kali meninggalkan fraksi lipid sisa di dalam matriks jaringan. Sisa-sisa ini menghalangi penetrasi lilin parafin yang menyeluruh, sehingga menghasilkan blok jaringan yang rapuh dan mengganggu proses mikrotomi. Proses *clearing* dilakukan pada suhu 60°C agar penetrasi minyak ke dalam jaringan secara cepat dan efektif. Proses pemanasan dapat menurunkan hambatan aliran akibat meningkatnya mobilitas molekul (Doring Krumreich *et al.*, 2026), sehingga viskositas minyak akan menjadi lebih rendah. Minyak alpukat memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan xylene. Untuk mengurangi viskositas minyak alpukat, *clearing* dilakukan dengan merendam minyak alpukat dalam *chamber* pada suhu 60°C menggunakan *waterbath* selama 15 menit sebelum jaringan masuk ke dalam proses *clearing*.

Alternatif agen *clearing* ketiga yang digunakan merupakan minyak pinus. Pada perlakuan dengan minyak pinus, minyak ini memiliki kinerja mekanis yang setara dengan xylene, dengan nilai tertinggi dalam preservasi arsitektur jaringan dengan nilai 97,2% dan kualitas mikrotomi dengan nilai 100%. Kinerja yang seimbang ini didorong oleh konstituen terpenoid aktif dalam minyak pinus, terutama alpha-pinene kelarutan lipid yang sangat tinggi dan indeks bias tinggi yaitu 1,46–1,47 pada 20 °C yang serupa dengan xylene, sehingga mendukung transparansi jaringan dan infiltrasi parafin yang efisien (Wimpy *et al.*, 2025). Pada hasil yang ditemukan, minyak pinus secara signifikan mengungguli xylene dalam mempertahankan struktur internal dengan nilai 63,8% untuk integritas kromatin nukleus dan 72,7% untuk kontras sitoplasma.

Secara keseluruhan, minyak pinus menunjukkan hasil yang paling efektif secara keseluruhan sebagai alternatif ramah lingkungan yang paling efektif untuk xylene, dengan nilai sebesar 83,3% yang diimbangi oleh hasil pemotongan mikrotomi yang sangat baik serta preservasi jaringan yang unggul. Minyak alpukat merupakan pilihan alternatif yang baik untuk proses *clearing*, dengan perlu adanya optimasi lebih lanjut terhadap suhu pemrosesan dan durasi *clearing* guna mengatasi kinerja mikrotomi yang lebih rendah. Lebih lanjut, studi dari Ningombam Jyostna *et al.* (2024) dan Snoddy *et al.* (2025) menyatakan bahwa minyak pinus merupakan alternatif agen *clearing* xylene yang efektif dengan hasil kualitas pewarnaan dan detail sitoplasma yang baik, serta penilaian tingkat penyusutan dan kemudahan mikrotomi.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa minyak pinus merupakan agen *clearing* alternatif yang paling efektif sebagai pengganti xylene pada pembuatan preparat histologi jaringan mencit. Minyak pinus menghasilkan kualitas mikrotomi dan preservasi arsitektur jaringan yang sangat baik serta memberikan kualitas preparat secara keseluruhan yang paling tinggi di antara agen *clearing* alternatif yang diuji. Sementara itu, minyak alpukat juga menunjukkan potensi sebagai agen *clearing* yang lebih aman dan ramah lingkungan karena mampu mempertahankan integritas kromatin nukleus, kontras sitoplasma, dan arsitektur jaringan dengan baik. Namun, kualitas mikrotomi yang dihasilkan masih lebih rendah akibat viskositas minyak yang tinggi sehingga memengaruhi proses infiltrasi parafin. Di sisi lain, penggunaan xylene sebagai kontrol tetap memberikan hasil yang baik, tetapi efektivitasnya dapat menurun apabila digunakan secara berulang akibat kontaminasi alkohol yang memengaruhi kualitas pewarnaan dan struktur jaringan. Dengan demikian, minyak pinus berpotensi menjadi alternatif pengganti xylene dalam proses *clearing* preparat histologi karena mampu menghasilkan kualitas preparat yang baik sekaligus menawarkan keuntungan sebagai bahan yang lebih ramah lingkungan.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengoptimalkan kondisi penggunaan minyak pinus dan minyak alpukat, seperti suhu, lama proses *clearing*, dan tingkat kemurnian minyak, agar kualitas preparat histologi yang dihasilkan semakin optimal. Selain itu, penelitian dengan jumlah sampel yang lebih besar serta penggunaan berbagai jenis jaringan perlu dilakukan untuk meningkatkan validitas hasil penelitian. Evaluasi terhadap penggunaan minyak sebagai agen *clearing* pada berbagai metode pewarnaan, efektivitas penggunaan berulang, serta analisis aspek keamanan, biaya, dan dampak lingkungan juga diperlukan untuk mendukung penerapannya sebagai alternatif pengganti xylene dalam laboratorium histoteknologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bright, O. A., Samuel, D. N., Musah Ayeley Adisa, Dorcas, O. O., & Ebenezer Senu. (2024). Clearing Properties Between Coconut Oil and Xylene in Histological Tissue Processing. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 72(4), 221554241241369. <https://doi.org/10.1369/00221554241241369>
- D'Azzuri, B. M., Susianti, S., & Karima, N. (2023). Vegetable oils as a substitute of toxic chemicals in the histopathological clearing process. *Medical Profession Journal of Lampung*, 13(6), 1080–1083. <https://doi.org/10.53089/medula.v13i6.813>
- Devendrababu, N., et al. (2026). Safer and sustainable alternatives to xylene in histopathology: A comprehensive review. *Journal of Applied Toxicology*. <https://doi.org/10.1002/jat.70029>
- Doring Krumreich, F., Kuhn Rutz, J., Do Espirito Santo de Jesus, F., Lubke Buss, G., Barboza Mendonça, C. R., Dellinghausen Borges, C., & Zambiasi, R. C. (2026). Rheological evaluation of Avocado OILS subjected to different extraction processes. *Desafios -*

- Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins, 13(1), 43–54.
<https://doi.org/10.20873/vol13n120263>
- Gopinath, A., & Yadav, S. A. (2026). Comparative Analysis of Essential Oil Composition in Pinus sylvestris, Leucadendron argenteum, Impatiens balsamina and Abies sibirica. *Current Analytical Chemistry*, 22(3), 544-554.
- Choukri, H., Harhar, H., Lee, L. H., Mani, V., Ming, L. C., Goh, K. W., Bouyahya, A., & Tabyaoui, M. (2023). Proximate composition, lipid and elemental profiling of eight varieties of avocado (*Persea americana*). *Scientific Reports*, 13(1), Article 22767.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-50119-y>
- Niaz, K., Bahadar, H., Maqbool, F., & Abdollahi, M. (2015). A review of environmental and occupational exposure to xylene and its health concerns. *EXCLI journal*, 14, 1167.
- Ningombam Jyostna, Bhargava, D., & Bansal, P. (2024). Use of Carrot Oil, Olive Oil, Pine Oil, Rose Oil in Comparison to Xylene as Clearing Agent During Tissue Processing: an in Vitro Study. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 21(3), 1111–1120.
<https://doi.org/10.13005/bbra/3290>
- S Kim Suvarna, Layton, C., & Bancroft, J. D. (2013). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (7th ed.). Churchill Livingstone Elsevier.
- 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
- Snoddy, E. O., Nguyen, C., & Visbal, A. P. (2025). PINE OIL AND LEMON OIL AS VIABLE BIOSAFE XYLENE ALTERNATIVES FOR HISTOLOGICAL STAINING IN TEACHING AND RESEARCH LABORATORIES. *The Texas Journal of Science*, 77(1).
https://doi.org/10.32011/txjsoci_77_1_article5
- Sofyanita, S., Nuraini, E., & Kusuma, A. (2022). Pengaruh penggunaan minyak nabati sebagai bahan clearing terhadap kualitas preparat histologi. *Jurnal Labora Medika*.
- Tanwar, M., Sharma, M., Karthikeyan, R., Kumar, M., & Tyagi, V. (2022). Usage of coconut oil as a biofriendly xylene substitute in tissue processing and staining. *International Journal of Health Sciences*, 6(S1), 660–675. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS1.4813>
- 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*, 25(2), 299–305.
<https://doi.org/10.4103/0973-029X.325232>
- Wimpy, Endang Widhiyastuti, Astri Aditya Wardhani, Pratama, E. O., Khoirunisa Saputri, & Ardy Prian Nirwana. (2025). Histological evaluation of eco-friendly clearing agents as substitutes for xylol in hematoxylin and eosin staining of fibroadenoma mammae tissue. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 14(2), 253–266.
<https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v14i2.698>