Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

The Comparison of Mouse (*Mus musculus*) Liver Tissue Staining Results Using Xylol and Orange Oil (d-Limonene) as Deparaffinization Agents

Narumi Ananta*, Muhammad Khakim Abdillah, Yeni Rahmawati, Irhamni Istiqomah
Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia;

Article History
Received : September 24th, 2026
Revised : October 16th, 2026
Accepted : November 02th, 2026

*Corresponding Author: **Narumi Ananta**, Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia;
Email: narumiadnan@gmail.com

Abstract: Xylol is a widely used deparaffinization agent in histological preparation due to its high efficiency in dissolving paraffin. However, xylol exposure poses serious health and environmental hazards owing to its toxicity. Consequently, safer alternatives are required, one of which is orange oil (d-limonene). This study aimed to compare the staining quality of mouse (*Mus musculus*) liver tissue using xylol versus d-limonene as deparaffinization agents. This was a laboratory experimental study using a post-test only control group design. A total of 36 mouse liver tissue slides were evaluated, divided evenly into the xylol group and the d-limonene group. Preparation quality was evaluated independently by two assessors using a 1–3 ordinal scale across five parameters: nuclear staining, cytoplasmic staining, color intensity, tissue structure, and background clarity. Data were analyzed using the Mann-Whitney U test. The results demonstrated that the mean quality scores for the xylol and d-limonene groups were nearly identical across all observed parameters. The Mann-Whitney U test yielded significance values p-values of 0.317 for nuclear staining, 0.317 for cytoplasmic staining, 0.296 for color intensity, 0.929 for tissue staining structure, and 0.463 for background clarity. All significance values were greater than 0.05 p>0.05, indicating no statistically significant difference between the two groups. In conclusion, d-limonene produces mouse liver tissue preparations with quality comparable to xylol, demonstrating its potential as a viable alternative deparaffinization agent.

Keywords: Deparaffinization; D-limonene; H&E staining; Xylol.

Pendahuluan

Histopatologi merupakan bidang penting dalam ilmu biomedis untuk mengevaluasi perubahan struktur dan morfologi jaringan dalam kondisi fisiologis maupun patologis. Pemeriksaan konvensional umumnya menggunakan jaringan *formalin-fixed paraffin-embedded* (FFPE) karena mampu mempertahankan struktur jaringan dan memungkinkan pemotongan menjadi irisan tipis. Kualitas preparat tidak hanya ditentukan oleh pengamatan mikroskopis, tetapi juga oleh tahapan pemrosesan jaringan, meliputi fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi dan *embedding* parafin, pemotongan, deparafinisasi, serta pewarnaan (Scioli *et al*., 2023; JoVE, 2025). Pengendalian setiap tahapan diperlukan untuk memperoleh gambaran jaringan dan detail seluler yang optimal.

Deparafinisasi bertujuan menghilangkan parafin sebelum rehidrasi dan pewarnaan karena sisa parafin dapat menghambat penetrasi larutan pewarna dan memengaruhi kualitas morfologi jaringan. Xylol secara konvensional digunakan karena efektif melarutkan parafin, tetapi pemilihannya perlu mempertimbangkan aspek keselamatan kerja dan pengelolaan limbah. Kondisi tersebut mendorong pengembangan metode *xylene-free* dan penggunaan bahan alternatif dalam histologi (Scioli *et al.,* 2023; Mitsa *et al.*, 2022; Gotur *et al.,* 2025). Efektivitas agen alternatif tidak hanya dinilai berdasarkan kemampuan menghilangkan parafin, tetapi juga berdasarkan kualitas pewarnaan dan kejelasan struktur jaringan (Scioli *et al.,* 2023).

Salah satu alternatif yang berpotensi digunakan adalah *d-limonene*, senyawa

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2026 The Author(s). This article is open access

monoterpena bersifat lipofilik yang terdapat dalam minyak kulit jeruk dan berpotensi melarutkan bahan nonpolar, termasuk parafin. Penelitian mengenai bahan berbasis *limonene* dan bahan alami menunjukkan potensi penggunaannya sebagai alternatif dalam proses *clearing* atau deparafinisasi dengan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) yang memadai (Gotur *et al.,* 2018; Alwahaibi *et al.,* 2018). Penggunaan bahan berbasis tumbuhan juga sejalan dengan pengembangan prosedur laboratorium yang mempertimbangkan keselamatan dan aspek lingkungan (Cano *et al.,* 2025; Rahmawati, 2025). Namun, hasil penggunaan bahan alternatif dapat berbeda bergantung pada karakteristik bahan dan kondisi prosedur (Ebhohimen *et al.,* 2023; Nafiah & Nuroini, 2025).

Penelitian mengenai bahan berbasis *limonene* menunjukkan bahwa hasil deparafinisasi dapat dipengaruhi oleh jenis bahan, konsentrasi, lama kontak, karakteristik jaringan, dan prosedur pewarnaan sehingga hasil pada satu kondisi tidak dapat langsung digeneralisasikan pada kondisi lainnya (Narayan *et al.,* 2023). Penelitian yang secara khusus membandingkan *d-limonene* dengan xylol sebagai agen deparafinisasi pada jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) menggunakan penilaian kualitas preparat yang terstandar masih terbatas. Hepar dipilih karena memiliki arsitektur histologis yang relatif jelas sehingga perubahan kualitas pewarnaan dan morfologi dapat diamati melalui pewarnaan HE (Sofyanita & Azahra, 2023).

Berdasarkan kesenjangan tersebut, penelitian ini bertujuan membandingkan kualitas preparat histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan *d-limonene*, kemudian diwarnai dengan HE. Penilaian dilakukan berdasarkan karakteristik pewarnaan dan kejelasan struktur jaringan untuk menentukan potensi *d-limonene* sebagai alternatif agen deparafinisasi. Hasil penelitian diharapkan memberikan informasi eksperimental mengenai penggunaan *d-limonene* dengan tetap mempertimbangkan efektivitas, keselamatan kerja, dan aspek lingkungan dalam proses histoteknik.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2026 di Laboratorium Histologi Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta dan Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha, Yogyakarta.

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post-test Only Control Group Design*. Populasi penelitian berupa jaringan hepar mencit betina (*Mus musculus*) yang telah difiksasi dan diproses menjadi blok parafin. Sampel penelitian berupa jaringan *lobus dexter* hepar mencit betina (*Mus musculus*) berusia 8–10 minggu dengan berat badan 20–30 g yang memenuhi kriteria penelitian.

Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer sehingga diperoleh 36 pita jaringan, yang terdiri atas 18 pita jaringan pada kelompok deparafinisasi menggunakan xylol dan 18 pita jaringan pada kelompok deparafinisasi menggunakan *d-limonene*. Pita jaringan tersebut ditempatkan pada enam preparat, dengan tiga preparat untuk masing-masing kelompok. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik *purposive sampling* berdasarkan karakteristik jaringan dan kriteria yang telah ditetapkan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis bahan deparafinisasi, yaitu xylol dan *d-limonene*, sedangkan variabel terikat adalah kualitas preparat histopatologi berdasarkan hasil pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Data diperoleh melalui pengamatan mikroskopis terhadap preparat oleh dua validator menggunakan lembar penilaian kualitas preparat. Bahan yang digunakan meliputi xylol, *d-limonene* dengan kemurnian ≥94%, *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%, alkohol bertingkat, parafin, dan reagen pewarnaan HE. Peralatan yang digunakan meliputi mikrotom, *water bath*, mikroskop cahaya, gelas objek, serta peralatan pendukung proses histologi.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian diawali dengan pengambilan jaringan *lobus dexter* hepar mencit betina (*Mus musculus*) yang kemudian difiksasi menggunakan NBF 10%. Jaringan selanjutnya diproses melalui tahapan dehidrasi

menggunakan alkohol bertingkat, *clearing*, infiltrasi parafin, dan *embedding* untuk menghasilkan blok parafin. Blok parafin kemudian dipotong menggunakan mikrotom hingga diperoleh pita jaringan yang selanjutnya ditempatkan pada gelas objek.

Preparat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan kelompok perlakuan yang dideparafinisasi menggunakan *d-limonene*. Sebelum digunakan, masing-masing bahan deparafinisasi dipanaskan menggunakan *water bath* pada suhu 64°C. Preparat kelompok xylol direndam dalam xylol selama 5 menit, sedangkan preparat kelompok *d-limonene* direndam dalam *d-limonene* selama 10 menit. Setelah deparafinisasi, preparat menjalani proses rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat hingga mencapai kondisi yang sesuai untuk pewarnaan. Selanjutnya, preparat diwarnai menggunakan Hematoksilin-Eosin (HE), kemudian dilakukan dehidrasi kembali menggunakan alkohol bertingkat, *clearing*, dan *mounting*. Preparat yang telah selesai dibuat diamati menggunakan mikroskop cahaya untuk mengevaluasi kualitas pewarnaan dan gambaran histologis jaringan.

Penilaian Kualitas Preparat

Kualitas preparat histopatologi dinilai oleh dua validator melalui pengamatan mikroskopis terhadap preparat yang telah diwarnai dengan HE. Penilaian dilakukan menggunakan skala ordinal 1–3 berdasarkan lima parameter, yaitu kualitas pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, intensitas warna, kejelasan struktur jaringan, dan kondisi latar belakang preparat. Setiap parameter diberikan skor sesuai dengan tingkat kualitas gambaran mikroskopis yang diamati. Hasil penilaian dari kedua validator digunakan sebagai data kualitas preparat pada kelompok xylol dan *d-limonene*.

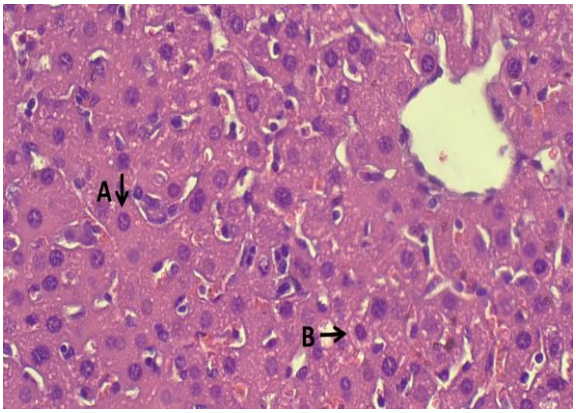
Analisis Data

Data hasil penilaian kualitas preparat dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan distribusi skor pada masing-masing kelompok. Karena data kualitas preparat berskala ordinal, perbedaan skor kualitas preparat antara kelompok deparafinisasi menggunakan xylol dan *d-limonene* dianalisis menggunakan uji Mann–Whitney *U*. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS dengan tingkat kepercayaan 95% dan taraf signifikansi $\alpha = 0{,}05$. Perbedaan dinyatakan signifikan apabila nilai $p < 0{,}05$.

Hasil dan Pembahasan

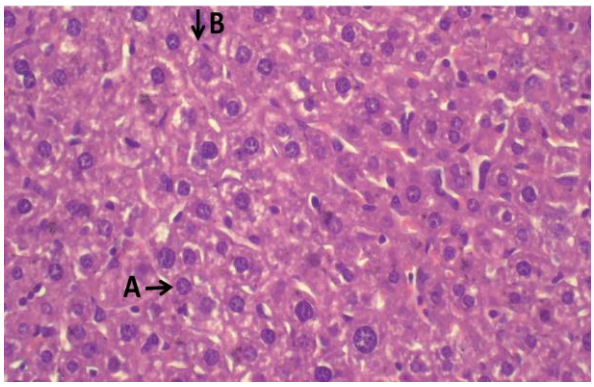
Hasil Pengamatan Preparat Jaringan Hepar Mencit

Preparat jaringan hepar mencit pada kelompok xylol dan *d-limonene* diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400× setelah dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kedua kelompok menghasilkan gambaran histologis yang relatif baik. Inti sel tampak berwarna biru keunguan akibat penyerapan hematoksilin, sedangkan sitoplasma tampak berwarna merah muda karena penyerapan eosin. Struktur jaringan hepar masih dapat diamati dengan cukup jelas pada kedua kelompok perlakuan.



Gambar 1. Preparat jaringan hepar mencit kelompok xylol dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE), perbesaran 400×. Keterangan: (A) inti sel, (B) sitoplasma.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, preparat jaringan hepar mencit kelompok xylol menunjukkan distribusi warna yang relatif merata dengan batas antar sel yang masih dapat diamati. Inti sel terlihat jelas dan sitoplasma terwarnai dengan baik sehingga detail morfologi jaringan masih dapat dikenali. Preparat kelompok *d-limonene* menunjukkan gambaran histologis yang relatif serupa dengan kelompok xylol. Inti sel dan sitoplasma masih dapat diamati dengan baik serta struktur jaringan tetap terlihat jelas. Hasil ini menunjukkan bahwa d-limonene mampu digunakan sebagai bahan deparafinisasi dalam proses preparat histologi.



Gambar 2. Preparat jaringan hepar mencit kelompok *d-limonene* dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE), perbesaran 400×. Keterangan: (A) inti sel, (B) sitoplasma.

Hasil Penilaian Kualitas Preparat

Berdasarkan Tabel 1, nilai rata-rata kualitas preparat pada kelompok xylol dan d-limonene menunjukkan hasil yang relatif serupa pada seluruh parameter pengamatan. Nilai tertinggi pada kelompok xylol diperoleh pada parameter pewarnaan inti sel dan sitoplasma sebesar 3,00, sedangkan nilai terendah terdapat pada parameter struktur sebesar 2,64. Pada kelompok d-limonene, nilai tertinggi diperoleh pada parameter intensitas warna sebesar 2,97, dan nilai terendah pada parameter latar belakang sebesar 2,61. Secara umum, kedua kelompok menunjukkan kualitas preparat yang baik dengan nilai yang mendekati skor maksimum.

Tabel 1. Rata-rata Hasil Penilaian Kualitas Preparat Jaringan Hepar Mencit pada Kelompok Xylol dan *d-Limonene*

No	Parameter	Xylol	*d-Limonene*
1.	Inti	3,00	2,97
2.	Sitoplasma	3,00	2,97
3.	Intensitas	2,92	2,97
4.	Struktur	2,64	2,64
5.	Latar	2,67	2,61

Persentase Kesepakatan (*Percent Agreement*) antar validator

Hasil persentase kesepakatan menunjukkan bahwa parameter inti sel dan sitoplasma memiliki tingkat kesepakatan tertinggi sebesar 97,22%, sedangkan parameter intensitas warna sebesar 88,89%. Parameter struktur dan latar belakang menunjukkan tingkat kesepakatan yang lebih rendah, masing-masing sebesar 41,67% dan 27,78%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penilaian terhadap inti sel dan sitoplasma lebih konsisten dibandingkan parameter lainnya.

Tabel 2. Persentase Kesepakatan (*Percent Agreement*) Antar Validator pada Penilaian Kualitas Preparat Jaringan Hepar Mencit

Parameter	Jumlah Kesepakatan	Total Preparat	Percent Agreement (%)
Inti Sel	35	36	97,22
Sitoplasma	35	36	97,22
Intensitas	32	36	88,89
Struktur	15	36	41,67
Latar	10	36	27,78

Hasil uji Mann-Whitney U

Hasil uji Mann-Whitney U menunjukkan bahwa seluruh parameter memiliki nilai signifikan lebih besar dari 0,05. Nilai signifikansi pada parameter inti sel sebesar 0,317, sitoplasma sebesar 0,317, intensitas warna sebesar 0,296, struktur pewarnaan sebesar 0,929, dan latar belakang sebesar 0,463. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara penggunaan xylol dan d-limonene terhadap kualitas preparat jaringan hepar mencit.

Tabel 3. Hasil Uji Mann-Whitney U pada Penilaian Kualitas Preparat Jaringan Hepar Mencit

No	Parameter	*p – value*
1.	Pewarnaan Inti Sel	0,317
2.	Pewarnaan Sitoplasma	0,317
3.	Intensitas Warna	0,296
4.	Struktur Pewarnaan	0,929
5.	Latar Belakang	0,463

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, kelompok xylol dan d-limonene menunjukkan kualitas preparat yang relatif sama pada seluruh parameter yang diamati. Tidak adanya perbedaan yang signifikan menunjukkan bahwa kedua bahan deparafinisasi mampu menghilangkan parafin dengan baik sehingga proses pewarnaan Hematoksilin-Eosin dapat berlangsung secara optimal.

Pada kedua kelompok, inti sel tampak berwarna biru keunguan dan sitoplasma tampak berwarna merah muda. Hal ini menunjukkan bahwa hematoksilin dan eosin dapat terserap dengan baik oleh jaringan. Hematoksilin merupakan zat warna basa yang berikatan dengan komponen basofilik, terutama asam nukleat pada inti sel, sedangkan eosin merupakan zat warna asam yang mewarnai komponen asidofilik seperti sitoplasma sehingga

menghasilkan warna merah muda hingga merah (Duda *et al*., 2025).

Selain parameter inti sel dan sitoplasma, parameter intensitas warna, struktur jaringan, dan latar belakang preparat juga menunjukkan hasil yang relatif sama pada kedua kelompok. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada ketiga parameter tersebut ($p > 0,05$), yang menunjukkan bahwa proses deparafinisasi menggunakan xylol maupun *d-limonene* mampu menghasilkan kualitas preparat yang sebanding. Meskipun beberapa preparat memperoleh nilai struktur dan latar belakang yang lebih rendah, hal tersebut diduga dipengaruhi oleh artefak selama proses preparasi yang dapat memengaruhi kualitas preparat dan interpretasi mikroskopis, bukan oleh perbedaan bahan deparafinisasi yang digunakan (Taqi *et al*., 2018).

Pada penelitian ini, proses deparafinisasi dilakukan dengan memanaskan larutan xylol dan *d-limonene* menggunakan *waterbath* pada suhu 64ºC. Selanjutnya, preparat kelompok kontrol direndam dalam larutan xylol selama 5 menit, sedangkan preparat kelompok perlakuan direndam dalam larutan *d-limonene* selama 10 menit. Pemanasan ini bertujuan untuk membantu melunakkan parafin sehingga proses pelarutan parafin berlangsung lebih optimal dan memungkinkan zat warna Hematoksilin-Eosin (HE) berpenetrasi dengan baik ke dalam jaringan (Suvarna *et al*., 2019). Lama perendaman *d-limonene* selama 10 menit merupakan modifikasi prosedur yang diterapkan pada penelitian ini sebagai upaya mengoptimalkan proses deparafinisasi. Penyesuaian kondisi deparafinisasi melalui variasi suhu dan lama perendaman pada penggunaan bahan alternatif juga telah dilakukan pada penelitian sebelumnya sebagai upaya memperoleh kondisi deparafinisasi yang optimal (Poernomo *et al*., 2025).

Tidak ditemukannya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok diduga karena d-limonene memiliki kemampuan yang sebanding dengan xylol dalam melarutkan parafin. d-Limonene merupakan senyawa monoterpen yang bersifat nonpolar dan lipofilik sehingga memiliki afinitas tinggi terhadap parafin. Berdasarkan prinsip *like dissolves like*, sifat tersebut memungkinkan d-limonene melarutkan parafin secara efektif sebagaimana pada penggunaan xylol (Cano *et al*., 2025).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian mengenai penggunaan bahan alternatif pengganti xylol dalam proses deparafinisasi dan pewarnaan histologi. Putri dan Zalzabillah (2025) melaporkan bahwa penggunaan minyak kelapa Mandar sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan hematoksilin-eosin menghasilkan kualitas pewarnaan inti, sitoplasma, dan homogenitas warna yang baik serta tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan xylol. Temuan serupa dilaporkan oleh Nafiah dan Nuroini (2025) pada jaringan hepar tikus Wistar, yaitu penggunaan minyak *Sacha inchi* sebagai agen deparafinisasi menghasilkan kualitas pewarnaan hematoksilin-eosin yang baik dan tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada kondisi perlakuan tertentu.

Selain itu, Gotur *et al*., (2025) menunjukkan bahwa ekstrak *Reetha* (*Sapindus mukorossi*) dapat digunakan sebagai alternatif xylol pada prosedur pewarnaan hematoksilin-eosin dengan hasil yang memadai. Hasil-hasil tersebut mendukung temuan penelitian ini bahwa bahan alternatif berbasis minyak atau bahan alami dapat menghasilkan kualitas preparat histologi yang sebanding dengan penggunaan xylol apabila kondisi prosedur, terutama suhu dan waktu kontak, dioptimalkan. Dengan demikian, penggunaan *d-limonene* pada penelitian ini menunjukkan potensi sebagai alternatif deparafinisasi yang mampu menghasilkan kualitas preparat histologi yang tidak berbeda secara signifikan dari xylol pada kondisi penelitian yang digunakan.

Beberapa preparat menunjukkan adanya perubahan morfologi berupa degenerasi ballooning, nekrosis sel, dan infiltrasi sel radang. Degenerasi ballooning ditandai oleh pembengkakan hepatosit akibat gangguan homeostasis seluler, sedangkan nekrosis ditandai dengan kerusakan sel yang disertai perubahan inti. Infiltrasi sel radang merupakan respons jaringan terhadap adanya cedera atau kerusakan sel pada hepar (Singla *et al*., 2023; Ribback *et al*., 2024). Namun, perubahan morfologi tersebut tidak termasuk parameter yang dinilai dalam penelitian ini sehingga tidak dilakukan analisis lebih lanjut.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, preparat jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang menggunakan xylol maupun *d-limonene* sebagai bahan deparafinisasi menunjukkan kualitas preparat yang baik. Hasil uji Mann-Whitney U

menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada parameter pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, intensitas warna, struktur pewarnaan, dan latar belakang preparat ($p > 0,05$). Dengan demikian, *d-limonene* berpotensi digunakan sebagai alternatif bahan deparafinisasi pengganti xylol karena mampu menghasilkan kualitas preparat yang relatif sama.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua dan kepada seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung pelaksanaan penelitian ini, khususnya kepada dosen pembimbing, dosen penguji, Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha Yogyakarta, serta Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta yang telah memberikan fasilitas dan arahan selama penelitian berlangsung.

Referensi

Alwahaibi, N. Y., & Aldughaishi, S. H. (2019). A substitute to xylene in deparaffinization and clearing prior to coverslipping in histopathology. *Journal of Laboratory Physicians, 11*(2).

Alwahaibi, N., Aljaradi, S., & Alazri, H. (2018). Alternative to xylene as a clearing agent in histopathology. *Journal of Laboratory Physicians, 10*(2).

Cano, P., Perez, F., & Gonzalez, A. (2025). Vegetable oils as xylene substitutes in histology: A comparative study. *Histology Research, 30*(2), 112–120.

Devendrababu, Y., Vikram, V., & Anandbabu, T. (2026). Safer and sustainable alternatives to xylene in histopathology: A comprehensive review. *Journal of Applied Toxicology, 46*(3), 775–792. https://doi.org/10.1002/jat.70029

Dewi, R., Santoso, A., & Lestari, P. (2023). Peran pemeriksaan histopatologi dalam diagnosis penyakit pada jaringan organ. *Jurnal Ilmu Kedokteran, 15*(2).

Duda, A. P. A., Rahmawati, Y., & Nailufar, Y. (2025). Kualitas pewarnaan hematoksilin–eosin pada jaringan apendiks. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology, 8*(1).

Ebhohimen, D., Iyare, G. I., & Omorodion, N. T. (2023). Evaluation of comparative performance of xylene and fresh lemon fruits extract as dewaxing agent in histopathology staining for liver, kidney, and lung in sectioned Wistar rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 27*(12).

Gotur, S. P., Wadhwan, V., Sharma, P., Gupta, R., Kamarthi, N., & Tyagi, S. (2025). Reetha (*Sapindus mukorossi*) extract as a biosafe surrogate for xylene in hematoxylin and eosin staining procedure. *Indian Journal of Pathology and Microbiology, 68*(2), 344–348.

Mitsa, G., Guo, Q., Goncalves, C., Preston, S. E., Lacasse, V., Aguilar-Mahecha, A., ... & Borchers, C. H. (2022). A non-hazardous deparaffinization protocol enables quantitative proteomics of core needle biopsy-sized formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue specimens. *International journal of molecular sciences*, *23*(8), 4443. https://doi.org/10.3390/ijms23084443

Nafiah, A. R. M., & Nuroini, F. (2025). Perbandingan kualitas pewarnaan hematoxylin eosin jaringan hepar tikus Wistar pada proses deparafinisasi menggunakan *Sacha inchi* oil (*Plukenetia volubilis*). *UNIMUS Web Conferences, 8*, 119–130. https://doi.org/10.26714/uwc.v8.119-130.2025

Narayan, B., Narayan Das, S., Kumar Das, B., & Rath, R. (2023). Alteration of cellular metabolism in cancer cells and its therapeutic. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 21*(3).

Poernomo, A. B., Christyaningsih, J., Utomo, R. T., & Istanto, W. (2025). Comparative analysis of mice kidney histology prepared with xylene and sunflower oil as deparaffinization agents. *International Journal of Advanced Health Science and Technology, 5*(4).

Putri, G. S. A., & Zalzabillah, N. F. (2025). The usage of Mandar coconut oil as an alternative deparaffinization agent in routine staining hematoxylin-eosin. *Medical Laboratory Network, 7*(1), 44–51. https://doi.org/10.31983/jlm.v7i1.12688

Rahmawati, Y. (2025). Efektivitas minyak kelapa sebagai *clearing agent* pengganti *xylene* dalam pembuatan sediaan mikroskopis. *Anakes: Jurnal Ilmiah*

Analis Kesehatan, 11(2).

Ribback, S., Cigliano, A., Wachtel, M., & Dombrowski, F. (2024). Hepatocellular ballooning is due to highly pronounced cellular alterations. *Journal of Clinical and Translational Hepatology, 12*(2).

Scioli, M. G., Fabbri, G., Cappelli, S., Savino, L., Ferlosio, A., & Orlandi, A. (2023). A high-performance xylene-free tissue-clearing agent for routine histology: Preliminary histomorphological results. *Annals of Diagnostic Pathology, 66*, 152163. https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2023.152163

Singla, T., Sharma, M., & Kumar, R. (2023). Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: Histopathological features and clinical significance. *Clinical Liver Disease, 21*(4).

Sofyanita, E. N., & Azahra, N. (2023). Pengaruh penggunaan minyak kelapa murni sebagai larutan *clearing* pada sediaan hepar mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Analis Laboratorium Medik, 8*(1).

Sravya, T., Rao, G. V., Kumari, M. G., Sagar, Y. V., Sivaranjani, Y., & Sudheerkanth, K. (2018). Evaluation of biosafe alternatives as xylene substitutes in hematoxylin and eosin staining procedure: A comparative pilot study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 22*(1).

Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2019). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (8th ed.). Elsevier.

Taqi, S., Sami, S. A., Sami, L. B., & Zaki, S. A. (2018). A review of artifacts in histopathology. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 22*(Suppl. 1).