

Minyak Zaitun sebagai Alternatif Xylol pada Deparafinisasi Jaringan Kista Ovarium dan Kanker Payudara

Yohanes Ardian Kapri Negara^{1*}, Adinugraha Amarullah², Ivan Charles Seran Klau³

¹D3 Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

²Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

³D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

Email: ^{1*}yohanes.ardian@uam.ac.id, ²adiamarullah@gmail.com, ³seranirvan0608@gmail.com

Abstract

Deparaffinization is an essential step in the preparation of histopathological specimens, as it aims to remove paraffin prior to Hematoxylin-Eosin (HE) staining. Xylene is commonly used for this purpose; however, its use requires careful consideration due to the potential health and environmental risks associated with xylene exposure. This study aimed to analyze the use of olive oil as an alternative to xylene for the deparaffinization of ovarian cyst and breast cancer tissues. An experimental study was conducted using 54 histopathological specimens consisting of ovarian cyst and breast cancer tissues. Each tissue type was divided into three treatment groups: deparaffinization using xylene, olive oil heated to 60°C, and unheated olive oil, with nine specimens in each group. The quality of the specimens following HE staining was evaluated based on microscopic characteristics using a scoring system ranging from 0 to 2. The results showed that the xylene group produced 9 specimens (100%) with a score of 2. In the olive oil heated to 60°C group, 8 specimens (88.9%) received a score of 2 and 1 specimen (11.1%) received a score of 1, whereas the unheated olive oil group produced 4 specimens (44.4%) with a score of 2 and 5 specimens (55.6%) with a score of 1 for both tissue types. Statistical analysis showed no significant differences among the treatments ($p > 0.05$). Olive oil heated to 60°C has the potential to be used as an alternative to xylene in the deparaffinization of histopathological tissue specimens.

Keywords: Olive Oil, Xylene, Deparaffinization, Histopathology, Hematoxylin-Eosin (HE) Staining.

Abstrak

Deparafinisasi merupakan tahap penting dalam proses pembuatan preparat histopatologi karena bertujuan menghilangkan parafin sebelum pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Xylol merupakan bahan yang umum digunakan, tetapi penggunaannya perlu diperhatikan karena paparan terhadap xylol dapat menimbulkan risiko kesehatan dan lingkungan. Penelitian ini bertujuan menganalisis penggunaan minyak zaitun sebagai alternatif xylol pada proses deparafinisasi jaringan kista ovarium dan kanker payudara. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan 54 preparat yang terdiri atas jaringan kista ovarium dan kanker payudara. Masing-masing jaringan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, yaitu deparafinisasi menggunakan xylol, minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C, dan minyak zaitun tanpa pemanasan, dengan masing-masing sembilan preparat. Kualitas preparat setelah pewarnaan HE dinilai berdasarkan gambaran mikroskopis menggunakan skor 0-2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok xylol menghasilkan 9 preparat (100%) dengan skor 2. Pada minyak zaitun 60°C, sebanyak 8 preparat (88,9%) memperoleh skor 2 dan 1 preparat (11,1%) skor 1, sedangkan minyak zaitun tanpa pemanasan menghasilkan 4 preparat (44,4%) dengan skor 2 dan 5 preparat (55,6%) dengan skor 1 pada kedua jenis jaringan. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antarperlakuan ($p > 0,05$). Minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C berpotensi digunakan sebagai alternatif xylol dalam proses deparafinisasi jaringan histopatologi.

Kata Kunci: Minyak Zaitun, Xylol, Deparafinisasi, Histopatologi, Pewarnaan HE.

1. PENDAHULUAN

Pemeriksaan histopatologi merupakan salah satu pemeriksaan penting dalam penegakan diagnosis penyakit melalui evaluasi perubahan morfologi dan struktur jaringan secara mikroskopis. Kualitas preparat histopatologi sangat dipengaruhi oleh setiap tahapan pengolahan jaringan, mulai dari fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi parafin, pemotongan, deparafinisasi, hingga pewarnaan (Cavalcanti et al., 2022; Likhithaswamy et al., 2022; Lunetta et al., 2022). Pada preparat yang telah tertanam dalam parafin, deparafinisasi menjadi tahap penting sebelum pewarnaan karena parafin harus dihilangkan agar larutan pewarna dapat berpenetrasi ke dalam jaringan secara optimal (Saribu et al., 2023; Sofyanita et al., 2022). Ketidaktepatan proses tersebut dapat menyebabkan retensi parafin, pewarnaan yang tidak merata, serta berkurangnya kejelasan struktur inti dan sitoplasma sehingga dapat memengaruhi kualitas interpretasi mikroskopis. (Dunn et al., 2024; Sofyanita et al., 2022)

Xylol atau xylene merupakan salah satu bahan yang banyak digunakan dalam proses *deparaffinization* dan *clearing* karena kemampuannya melarutkan parafin dan menghasilkan transparansi jaringan yang mendukung proses pemeriksaan mikroskopis. Namun, penggunaan xylol dalam laboratorium histopatologi menjadi perhatian karena sifatnya yang toksik dan mudah menguap, sehingga paparan terhadap bahan tersebut dapat menimbulkan risiko kesehatan bagi tenaga laboratorium (Devendrababu et al., 2026; Scioli et al., 2023). Oleh karena itu, penggunaan xylol memerlukan penerapan prosedur keselamatan kerja yang memadai. Perhatian terhadap aspek keselamatan dan lingkungan tersebut mendorong berkembangnya penelitian mengenai bahan alternatif yang lebih aman dan berkelanjutan untuk menggantikan atau mengurangi penggunaan xylol dalam proses histologi (Devendrababu et al., 2026). Berbagai bahan alami maupun sintesis telah dikembangkan sebagai alternatif xylol, tetapi performanya tetap perlu dievaluasi karena tidak seluruh bahan pengganti memberikan kualitas histologis yang setara dengan metode konvensional (Devendrababu et al., 2026; Gotur et al., 2025; Scioli et al., 2023; Thajudeen et al., 2022).

Berbagai penelitian telah mengevaluasi penggunaan bahan alternatif pada tahap deparafinisasi dan *clearing*. Thajudeen et al. (2022) melaporkan bahwa minyak kelapa, air lemon, dan cairan pencuci piring dapat digunakan sebagai bahan alternatif terhadap xylol dalam proses preparasi histologi dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE), meskipun kualitas hasil yang diperoleh menunjukkan perbedaan pada beberapa parameter pewarnaan. Penelitian lain oleh Bordoloi et al. (2022) juga menunjukkan potensi minyak kelapa sebagai *clearing agent* alternatif terhadap xylol pada preparat histologi. Temuan tersebut menunjukkan bahwa pengembangan bahan alternatif terhadap xylol perlu mempertimbangkan kemampuan bahan dalam menghasilkan gambaran morfologi jaringan dan kualitas pewarnaan yang memadai (Bordoloi et al., 2022; Thajudeen et al., 2022).

Minyak nabati merupakan salah satu kelompok bahan yang menarik untuk dikembangkan sebagai alternatif xylol karena karakteristiknya memungkinkan penggunaannya dalam proses *clearing* pada preparasi jaringan histologi. Sofyanita et al. (2022) secara khusus mengevaluasi minyak zaitun sebagai pengganti xylene pada pengolahan jaringan kulit dan hepar mencit dengan pewarnaan HE. Hasil penelitian tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok xylene dan minyak zaitun berdasarkan penilaian keseluruhan hasil pewarnaan ($p = 0,262$), sehingga minyak zaitun memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan alternatif dalam pengolahan jaringan histologis (Sofyanita et al., 2022). Temuan tersebut juga sejalan dengan penelitian Dolok Saribu et al. (2023) yang menunjukkan potensi minyak zaitun

sebagai *clearing agent* dalam preparasi histologi.(Saribu et al., 2023; Sofyanita et al., 2022)

Selain jenis bahan yang digunakan, karakteristik fisik bahan juga dapat memengaruhi keberhasilan proses deparafinisasi. Viskositas dan karakteristik fisik *clearing agent* dapat memengaruhi interaksinya dengan parafin serta kualitas hasil preparasi jaringan (Saribu et al., 2023; Sofyanita et al., 2022). Efektivitas suatu bahan alternatif tidak hanya berkaitan dengan jenis bahan yang digunakan, tetapi juga dengan kondisi penggunaannya, termasuk suhu dan waktu perlakuan. Suhu menjadi salah satu faktor yang berpotensi memengaruhi karakteristik fisik bahan selama proses deparafinisasi. Penelitian mengenai metode deparafinisasi berbasis panas menunjukkan bahwa pemanasan dapat dimanfaatkan sebagai pendekatan untuk membantu menghilangkan parafin tanpa bergantung sepenuhnya pada penggunaan xylol (Marinho et al., 2023; Marinho & Hanscheid, 2023).

Penggunaan minyak zaitun dengan perlakuan suhu menjadi menarik untuk dikaji karena perubahan suhu dapat memengaruhi karakteristik fisik minyak, termasuk viskositas, yang secara teoritis dapat memengaruhi kontak bahan dengan permukaan preparat dan proses pelepasan parafin (Sofyanita et al., 2022; Dolok Saribu et al., 2023). Selain itu, pendekatan deparafinisasi berbasis panas telah dilaporkan sebagai salah satu metode alternatif untuk membantu menghilangkan parafin tanpa penggunaan xylol (Marinho et al., 2023; Marinho & Hanscheid, 2023). Dalam penelitian ini, minyak zaitun digunakan dalam dua kondisi, yaitu tanpa pemanasan dan setelah dipanaskan hingga 60°C. Kedua perlakuan tersebut dibandingkan dengan xylol sebagai kontrol untuk mengetahui kualitas gambaran mikroskopis jaringan setelah pewarnaan HE (Dunn et al., 2024, 2025). Penelitian dilakukan pada jaringan kista ovarium dan kanker payudara untuk mengevaluasi konsistensi hasil pada dua jenis jaringan dengan karakteristik morfologi yang berbeda. Rancangan penelitian menggunakan tiga kelompok perlakuan dengan sembilan pengulangan pada masing-masing kelompok, sehingga diperoleh total 54 preparat.. (Marinho et al., 2023; Marinho & Hanscheid, 2023)

Penelitian mengenai minyak zaitun sebagai alternatif xylol dalam pengolahan jaringan masih lebih banyak berfokus pada tahap clearing dan menggunakan jaringan hewan. Sofyanita et al. (2022), misalnya, mengevaluasi minyak zaitun sebagai pengganti xylene pada jaringan kulit dan hepar mencit dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE), sedangkan Sofyanita dan Annisa (2023) mengevaluasi penggunaan minyak zaitun dengan pemanasan sebagai larutan penjernih pada jaringan hepar mencit. Kedua penelitian tersebut menunjukkan potensi minyak zaitun dalam menghasilkan kualitas preparat histologi yang dapat dibandingkan dengan penggunaan xylene. Penelitian lain juga telah mengevaluasi berbagai minyak nabati sebagai bahan alternatif xylol, termasuk minyak kelapa, minyak zaitun, dan minyak sawit, terutama pada tahap clearing (Dolok Saribu et al., 2023). Namun, penelitian yang secara khusus mengevaluasi minyak zaitun pada tahap deparafinisasi jaringan manusia dengan membandingkan kondisi minyak tanpa pemanasan dan dengan pemanasan masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi penggunaan minyak zaitun pada suhu 60°C dan tanpa pemanasan sebagai alternatif deparafinisasi terhadap xylol pada jaringan kista ovarium dan kanker payudara.(Saribu et al., 2023; Sofyanita et al., 2022)

Berdasarkan kondisi tersebut, hipotesis penelitian ini adalah bahwa penggunaan minyak zaitun tanpa pemanasan maupun dengan pemanasan pada suhu 60°C dapat menghasilkan gambaran mikroskopis jaringan kista ovarium dan kanker payudara yang tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan penggunaan xylol pada pewarnaan HE. Penelitian ini bertujuan menganalisis gambaran mikroskopis jaringan kista ovarium dan kanker payudara yang dideparafinisasi menggunakan minyak zaitun tanpa

pemanasan dan minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C dibandingkan dengan xylol pada pewarnaan HE. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi minyak zaitun sebagai bahan alternatif deparafinisasi yang lebih aman serta menjadi dasar untuk pengembangan metode pengolahan preparat histopatologi yang mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan xylol. (Kassab et al., 2024; Marinho et al., 2023; Sofyanita et al., 2022)

2. METODE PENELITIAN

2.1 Tahapan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan membandingkan kualitas preparat histopatologi setelah proses deparafinisasi menggunakan minyak zaitun dengan dan tanpa pemanasan serta xylol sebagai kontrol. Tahapan penelitian meliputi persiapan sampel, pembuatan preparat jaringan, proses deparafinisasi, pewarnaan hematoksilin-eosin (HE), dan pengamatan kualitas preparat secara mikroskopis (Lorsuwannarat et al., 2024). Deparafinisasi dilakukan untuk menghilangkan parafin dari jaringan sebelum pemberian pewarna berbasis air sehingga pewarna dapat berinteraksi dengan komponen jaringan secara optimal (Marinho & Hanscheid, 2023).

Secara umum, tahapan penelitian dilakukan dengan alur: persiapan jaringan kista ovarium dan kanker payudara → pembuatan preparat histologi → pembagian kelompok perlakuan → deparafinisasi menggunakan xylol, minyak zaitun dipanaskan 60°C, dan minyak zaitun tanpa pemanasan → pewarnaan HE → pengamatan mikroskopis → penilaian kualitas gambaran jaringan → analisis data. Alur tersebut mengikuti rancangan penelitian pada laporan yang menggunakan tiga kelompok perlakuan dengan sembilan pengulangan pada masing-masing kelompok.

2.2 Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan desain eksperimental dengan tiga kelompok perlakuan pada dua jenis jaringan, yaitu jaringan kista ovarium dan jaringan kanker payudara. Kelompok perlakuan terdiri atas xylol sebagai kontrol, minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C, dan minyak zaitun tanpa pemanasan. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak sembilan kali sehingga diperoleh 27 preparat untuk masing-masing jenis jaringan dan total 54 preparat.

Jumlah pengulangan ditentukan berdasarkan rumus Federer:

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

dengan (r) sebagai jumlah pengulangan dan (t) sebagai jumlah perlakuan. Dengan tiga perlakuan, diperoleh kebutuhan minimal sembilan pengulangan. Rancangan tersebut sesuai dengan rancangan yang digunakan dalam penelitian awal.

2.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian berupa sediaan jaringan yang digunakan untuk pemeriksaan histopatologi. Sampel terdiri atas jaringan kista ovarium dan kanker payudara yang telah difiksasi dan diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Anwar Medika Sidoarjo. Sampel diperiksa terlebih dahulu untuk memastikan jaringan berada dalam kondisi yang memadai untuk proses pembuatan preparat, deparafinisasi, dan pewarnaan.

2.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi mikrotom, hotplate, waterbath, pinset, gelas beker, gelas ukur, kuas, stopwatch, kaset jaringan, kaca objek, kaca penutup, dan mikroskop. Bahan penelitian meliputi jaringan kista ovarium, jaringan kanker payudara, buffered

neutral formalin (NBF), parafin, xylol, minyak zaitun, alkohol dengan berbagai konsentrasi, aquadest, hematoksin, eosin, entellan, dan minyak emersi.

2.5 Persiapan dan Pembuatan Preparat Jaringan

Jaringan kista ovarium dan kanker payudara yang telah difiksasi dalam formalin 10% selama 24 jam digunakan sebagai bahan penelitian. Jaringan dipotong sesuai kebutuhan pembuatan blok parafin, kemudian diproses hingga terbentuk blok jaringan. Potongan jaringan selanjutnya dipotong menggunakan mikrotom dan diregangkan dalam waterbath pada suhu 37-40°C sebelum ditempatkan pada kaca objek. Preparat kemudian dipersiapkan untuk proses deparafinisasi dan pewarnaan HE.

2.6 Proses Deparafinisasi

Preparat dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan bahan deparafinisasi. Kelompok pertama menggunakan minyak zaitun tanpa pemanasan pada suhu ruang. Kelompok kedua menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan hingga 60°C. Kelompok ketiga menggunakan xylol sebagai kontrol. Masing-masing preparat direndam dalam bahan deparafinisasi selama 10 menit. Pemilihan minyak zaitun sebagai bahan alternatif didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan potensi minyak zaitun sebagai pengganti xylene dalam pengolahan jaringan histologi dengan pewarnaan HE (Pratiwi & Armalina, 2021; Sofyanita et al., 2022)

Penggunaan kondisi pemanasan dibandingkan dengan minyak zaitun tanpa pemanasan dilakukan untuk mengetahui apakah perlakuan suhu dapat memberikan perbedaan terhadap kualitas proses deparafinisasi. Penggunaan suhu dalam pengembangan metode alternatif deparafinisasi juga telah menjadi perhatian dalam penelitian sebelumnya, terutama karena pendekatan berbasis panas dapat membantu proses pelepasan parafin dari potongan jaringan (Marinho et al., 2023).

2.7 Pewarnaan Hematoksin-Eosin

Setelah proses deparafinisasi, preparat menjalani tahap rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat, pencucian dengan aquadest, pewarnaan hematoksin, pencucian kembali, pewarnaan eosin, dehidrasi, dan clearing. Pada kelompok kontrol, proses deparafinisasi dilakukan menggunakan xylol sebanyak tiga tahap, masing-masing selama tiga menit. Rehidrasi dilakukan menggunakan alkohol 96%, 80%, dan 70%, masing-masing selama dua menit. Pewarnaan hematoksin dilakukan selama 15 menit dan eosin selama satu menit. Setelah proses pewarnaan, preparat didehidrasi dan dilakukan clearing menggunakan xylol sebelum mounting.

Pada kelompok minyak zaitun, tahapan pewarnaan HE dilakukan dengan prosedur yang sama setelah tahap deparafinisasi. Setelah pewarnaan selesai, preparat dipasang menggunakan entellan dan kaca penutup. Pengamatan dilakukan secara mikroskopis untuk mengevaluasi kualitas gambaran jaringan. (Sofyanita & Siwi, 2024)

2.8 Penilaian Kualitas Gambaran Mikroskopis

Kualitas preparat dinilai berdasarkan gambaran mikroskopis setelah pewarnaan HE. Parameter pengamatan meliputi kejelasan morfologi sel, warna dan kejelasan inti sel, serta kejelasan sitoplasma. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran objektif 40×. Penilaian dilakukan menggunakan skor ordinal sesuai kriteria penilaian yang telah ditetapkan dalam penelitian. Penggunaan parameter morfologi inti, sitoplasma, kejelasan, dan keseragaman pewarnaan sejalan dengan penelitian terdahulu dalam mengevaluasi alternatif bahan deparafinisasi terhadap xylol.

2.9 Analisis Data

Data hasil pengamatan berupa skor kualitas preparat dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan distribusi kualitas preparat pada masing-masing kelompok perlakuan. Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui perbedaan hasil pengamatan antara kelompok xylol, minyak zaitun 60°C, dan minyak zaitun tanpa pemanasan. Uji normalitas dilakukan menggunakan Shapiro-Wilk. Karena data penilaian kualitas preparat bersifat ordinal dan hasil uji normalitas menunjukkan distribusi data tidak normal, analisis dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik. (Sonjaya et al., 2025)

Nilai signifikansi ditetapkan pada ($p < 0,05$). Hasil analisis kemudian digunakan untuk menentukan ada atau tidaknya perbedaan kualitas gambaran mikroskopis antarperlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Gambaran Mikroskopis Preparat Jaringan

Penelitian ini membandingkan kualitas preparat jaringan kista ovarium dan kanker payudara setelah proses deparafinisasi menggunakan tiga perlakuan, yaitu xylol sebagai kontrol, minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C, dan minyak zaitun tanpa pemanasan. Penilaian dilakukan berdasarkan gambaran mikroskopis preparat setelah pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) pada perbesaran objektif 40×. Skor 2 menunjukkan gambaran preparat baik, skor 1 menunjukkan gambaran kurang baik, sedangkan skor 0 menunjukkan gambaran tidak baik.

Pada jaringan kista ovarium, seluruh preparat pada kelompok kontrol memperoleh skor 2. Pada kelompok minyak zaitun 60°C, sebanyak 8 dari 9 preparat memperoleh skor 2 dan 1 preparat memperoleh skor 1. Sementara itu, kelompok minyak zaitun tanpa pemanasan menghasilkan 4 preparat dengan skor 2 dan 5 preparat dengan skor 1. Pola yang hampir sama ditemukan pada jaringan kanker payudara. Kelompok kontrol menghasilkan 9 preparat dengan skor 2, kelompok minyak zaitun 60°C menghasilkan 8 preparat dengan skor 2 dan 1 preparat dengan skor 1, sedangkan kelompok minyak zaitun tanpa pemanasan menghasilkan 4 preparat dengan skor 2 dan 5 preparat dengan skor 1. Data penelitian menunjukkan bahwa kelompok minyak zaitun yang dipanaskan memiliki hasil mikroskopis yang lebih konsisten dibandingkan minyak zaitun tanpa pemanasan.

Tabel 3.1. Distribusi skor gambaran mikroskopis preparat jaringan

Jenis Jaringan	Perlakuan	Skor 2 n (%)	Skor 1 n (%)	Skor 0 n (%)
Kista ovarium	Xylol	9 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Kista ovarium	Minyak zaitun 60°C	8 (88,9)	1 (11,1)	0 (0,0)
Kista ovarium	Minyak zaitun tanpa pemanasan	4 (44,4)	5 (55,6)	0 (0,0)
Kanker payudara	Xylol	9 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Kanker payudara	Minyak zaitun 60°C	8 (88,9)	1 (11,1)	0 (0,0)
Kanker payudara	Minyak zaitun tanpa pemanasan	4 (44,4)	5 (55,6)	0 (0,0)

Pada pengamatan mikroskopis, preparat kelompok kontrol dan minyak zaitun 60°C memperlihatkan struktur sel yang lebih jelas, inti sel dengan pewarnaan ungu yang lebih tegas, serta sitoplasma yang relatif jernih. Sebaliknya, beberapa preparat yang menggunakan minyak zaitun tanpa pemanasan menunjukkan gambaran sel yang kurang tajam dan intensitas pewarnaan yang lebih rendah. Temuan tersebut menunjukkan bahwa kondisi minyak zaitun selama proses deparafinisasi dapat memengaruhi kualitas akhir preparat.

3.2 Hasil Analisis Statistik

Data kualitas preparat merupakan data ordinal dengan jumlah sampel yang relatif kecil. Berdasarkan laporan penelitian, uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan nilai signifikansi $<0,001$ pada kelompok kontrol, minyak zaitun 60°C , dan minyak zaitun tanpa pemanasan pada kedua jenis jaringan. Dengan demikian, data tidak memenuhi asumsi distribusi normal sehingga analisis selanjutnya dilakukan menggunakan uji nonparametrik.

Tabel 3.2. Hasil analisis statistik kualitas preparat

Jenis jaringan	Perbandingan	Asymp. Sig.	Keterangan
Kista ovarium	Xylol vs minyak zaitun 60°C	0,317	Tidak berbeda signifikan
Kista ovarium	Xylol vs minyak zaitun tanpa pemanasan	0,052	Tidak berbeda signifikan
Kanker payudara	Xylol vs minyak zaitun 60°C	0,317	Tidak berbeda signifikan
Kanker payudara	Xylol vs minyak zaitun tanpa pemanasan	0,125	Tidak berbeda signifikan

Hasil analisis menunjukkan seluruh nilai signifikansi lebih besar dari 0,05. Dengan demikian, berdasarkan analisis statistik yang dilaporkan dalam penelitian ini, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara perlakuan minyak zaitun dan kelompok kontrol xylol pada kualitas gambaran mikroskopis preparat. Nilai $p=0,052$ pada jaringan kista ovarium untuk kelompok minyak zaitun tanpa pemanasan berada sangat dekat dengan batas signifikansi 0,05, sehingga hasil tersebut tetap perlu dipandang secara hati-hati dan tidak semata-mata diinterpretasikan sebagai bukti bahwa kedua perlakuan benar-benar setara.

3.3 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C menghasilkan kualitas preparat yang secara deskriptif mendekati kelompok kontrol. Sebanyak 88,9% preparat pada kedua jenis jaringan memperoleh skor 2, sedangkan seluruh preparat pada kelompok kontrol memperoleh skor 2. Sebaliknya, minyak zaitun tanpa pemanasan hanya menghasilkan 44,4% preparat dengan skor 2. Pola tersebut menunjukkan bahwa pemanasan minyak zaitun kemungkinan berperan dalam meningkatkan efektivitas proses deparafinisasi. Namun, interpretasi tersebut tetap perlu dibatasi pada hasil deskriptif penelitian karena penelitian ini tidak secara khusus mengukur perubahan sifat fisik minyak selama pemanasan.

Secara prinsip, deparafinisasi diperlukan untuk menghilangkan parafin sebelum jaringan berinteraksi dengan larutan pewarna berbasis air. Paraffin bersifat tidak larut dalam air sehingga keberadaannya pada permukaan atau di sekitar jaringan dapat menghambat penetrasi zat warna dan menyebabkan hasil pewarnaan kurang optimal. Proses deparafinisasi secara konvensional menggunakan xylol, tetapi penggunaan xylol terus menjadi perhatian karena sifat toksik dan paparan terhadap pelarut organik di lingkungan laboratorium. Penelitian mengenai alternatif xylol karena itu semakin berkembang, baik menggunakan bahan alami maupun pendekatan bebas pelarut. (Badjuri et al., 2023)

Penggunaan minyak zaitun sebagai alternatif dalam penelitian ini memberikan hasil yang sejalan dengan penelitian Sofyanita et al. (2022). Penelitian tersebut membandingkan minyak zaitun dan xylene pada prosesing jaringan kulit dan hepar mencit dengan pewarnaan HE. Hasil keseluruhan menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok xylene dan minyak zaitun dengan nilai $p=0,262$. Temuan tersebut mendukung potensi penggunaan minyak berbasis nabati dalam pengolahan jaringan histologis. Penggunaan bahan alternatif tetap perlu

mempertimbangkan kualitas pewarnaan dan karakteristik preparat yang dihasilkan karena kualitas hasil HE dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor teknis dalam proses preparasi. (Ma et al., 2024; Nazhiifah & Sofyanita, 2023; Sofyanita et al., 2022)

Pada penelitian ini, efek pemanasan menjadi hal yang menarik karena minyak zaitun 60°C memberikan hasil deskriptif yang lebih baik dibandingkan minyak zaitun tanpa pemanasan. Perubahan suhu dapat memengaruhi karakteristik fisik minyak, termasuk viskositas, yang secara teoritis dapat memengaruhi kontak minyak dengan parafin dan permukaan preparat. Kondisi tersebut berpotensi membantu proses pelepasan parafin dari permukaan preparat. Temuan mengenai penggunaan suhu pada bahan berbasis minyak juga dilaporkan oleh Badjuri et al. (2023), yang mengevaluasi variasi suhu dan waktu virgin coconut oil pada proses deparafinisasi dengan pewarnaan HE. Meskipun jenis minyak yang digunakan berbeda, penelitian tersebut memberikan dasar bahwa kondisi suhu dan waktu kontak perlu dipertimbangkan dalam penggunaan minyak sebagai bahan deparafinisasi. (Badjuri et al., 2023)

Temuan mengenai pentingnya perlakuan panas juga memiliki kesesuaian dengan penelitian Marinho dan Hanscheid (2023). Penelitian tersebut mengembangkan metode deparafinisasi berbasis panas tanpa pelarut dan menunjukkan bahwa parafin dapat dihilangkan melalui pendekatan berbasis panas sebelum proses pewarnaan. Penelitian tersebut memang menggunakan mekanisme dan tujuan pewarnaan yang berbeda dengan penelitian ini, sehingga hasilnya tidak dapat disamakan secara langsung. Namun, secara prinsip, penelitian tersebut memperlihatkan bahwa pendekatan berbasis panas dapat digunakan untuk membantu menghilangkan parafin tanpa bergantung sepenuhnya pada xylol. (Marinho & Hanscheid, 2023)

Penelitian Marinho et al. (2023) juga menunjukkan bahwa metode deparafinisasi berbasis panas dapat menghindari efek merugikan xylene terhadap pewarnaan acid-fast dan bahkan menghasilkan intensitas fluoresensi yang lebih tinggi dibandingkan deparafinisasi menggunakan xylene. Meskipun penelitian tersebut berfokus pada deteksi mikobakteri dan bukan pewarnaan HE, hasilnya memberikan dukungan tambahan bahwa pendekatan berbasis panas merupakan salah satu arah yang layak dikembangkan dalam optimasi proses deparafinisasi. (Marinho et al., 2023)

Dari sisi kualitas mikroskopis, preparat dengan skor 2 pada penelitian ini menunjukkan struktur sel yang lebih jelas, inti sel terwarnai dengan baik, sitoplasma terlihat jelas, dan tidak terdapat gangguan parafin yang bermakna. Kondisi tersebut penting karena keberhasilan pewarnaan HE tidak hanya ditentukan oleh jenis zat warna, tetapi juga oleh keberhasilan tahap preparasi jaringan sebelumnya. Variasi kualitas pewarnaan HE dapat memengaruhi keterbacaan struktur jaringan sehingga penilaian terhadap kualitas preparat menjadi bagian penting dalam evaluasi metode histopatologi (Dunn et al., 2025). Deparafinisasi yang tidak optimal dapat menghasilkan artefak atau mengurangi keterbacaan struktur jaringan. Oleh karena itu, kualitas gambaran mikroskopis dapat digunakan sebagai salah satu indikator untuk menilai keberhasilan proses deparafinisasi.

Meskipun secara deskriptif minyak zaitun 60°C memberikan hasil yang mendekati xylol, hasil statistik penelitian tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada taraf 5%. Kondisi ini mendukung penggunaan istilah “berpotensi sebagai alternatif” daripada menyatakan bahwa minyak zaitun 60°C telah terbukti menggantikan xylol secara definitif. Tidak adanya perbedaan bermakna bukan berarti kedua metode terbukti identik atau ekuivalen, terutama karena penelitian ini menggunakan jumlah sampel yang relatif kecil dan parameter penilaian berupa skor ordinal. Penelitian lanjutan dengan jumlah sampel lebih besar, penilaian oleh beberapa pengamat, serta analisis reliabilitas penilaian akan memberikan bukti yang lebih kuat.

Dari perspektif kepraktisan, penggunaan minyak zaitun dengan pemanasan juga perlu dipertimbangkan berdasarkan waktu operasional dan kebutuhan peralatan. Metode ini memerlukan tahap tambahan berupa pemanasan minyak hingga suhu 60°C sehingga secara operasional dapat menambah waktu persiapan dibandingkan penggunaan xylol yang dapat langsung digunakan pada kondisi kerja yang telah ditetapkan. Sebaliknya, apabila minyak zaitun dapat memberikan kualitas preparat yang memadai dengan waktu kontak yang efisien dan prosedur pemanasan yang terstandar, metode tersebut berpotensi dikembangkan sebagai alternatif yang dapat diterapkan dalam kondisi laboratorium tertentu. Efisiensi waktu tersebut belum dapat disimpulkan dari penelitian ini karena durasi keseluruhan proses, waktu pemanasan, dan waktu kerja operator tidak dianalisis sebagai variabel penelitian.

Aspek biaya juga menjadi pertimbangan penting sebelum metode ini diterapkan secara rutin. Perbandingan biaya tidak hanya mencakup harga bahan deparafinisasi, tetapi juga kebutuhan energi untuk pemanasan, penggunaan alat pemanas, volume bahan per preparat, frekuensi penggantian bahan, pengelolaan limbah, serta biaya keselamatan kerja. Oleh karena penelitian ini tidak melakukan analisis biaya secara langsung, belum dapat disimpulkan bahwa penggunaan minyak zaitun 60°C lebih ekonomis atau lebih cost-effective dibandingkan xylol. Namun, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan yang membandingkan biaya per preparat, waktu proses, konsumsi energi, dan kebutuhan tenaga kerja antara metode xylol dan minyak zaitun dengan pemanasan. Analisis tersebut akan memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai kelayakan penerapan metode dari aspek kualitas, operasional, dan ekonomi.

Hasil penelitian juga perlu dilihat dalam konteks perkembangan metode histopatologi yang lebih aman. Literatur terbaru menunjukkan bahwa penelitian mengenai alternatif xylene berkembang karena kebutuhan untuk mengurangi risiko paparan bahan kimia dan mencari metode yang tetap mampu mempertahankan kualitas diagnostik. Namun, tidak semua alternatif memberikan performa yang sama dengan xylene, sehingga evaluasi kualitas histomorfologi tetap menjadi bagian penting sebelum suatu bahan dapat diterapkan secara rutin. (Devendrababu et al., 2026; Scioli et al., 2023)

Dengan demikian, hasil penelitian ini memberikan indikasi bahwa minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C memiliki potensi untuk digunakan sebagai alternatif dalam proses deparafinisasi jaringan kista ovarium dan kanker payudara. Keunggulan utamanya dalam penelitian ini terlihat pada konsistensi gambaran mikroskopis yang lebih baik dibandingkan minyak zaitun tanpa pemanasan. Namun, penerapan rutin masih memerlukan penelitian lanjutan yang mengevaluasi variasi suhu, lama kontak, konsentrasi atau jenis minyak, berbagai jenis jaringan, serta parameter kualitas histologis dan diagnostik yang lebih luas (Scioli et al., 2023). Penelitian selanjutnya juga perlu memasukkan analisis waktu operasional dan biaya per preparat agar kelayakan metode dapat dinilai tidak hanya berdasarkan kualitas gambaran mikroskopis, tetapi juga dari aspek efisiensi dan ekonomi.

4. KESIMPULAN

Minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C berpotensi digunakan sebagai alternatif xylol dalam proses deparafinisasi jaringan kista ovarium dan kanker payudara. Penggunaan minyak zaitun 60°C menghasilkan gambaran mikroskopis dengan 88,9% preparat memperoleh skor 2, sedangkan kelompok xylol menghasilkan 100% preparat dengan skor 2. Hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara penggunaan minyak zaitun 60°C dan xylol pada kualitas gambaran mikroskopis preparat. Minyak zaitun tanpa pemanasan menghasilkan kualitas preparat yang lebih rendah secara deskriptif dibandingkan minyak zaitun 60°C.

Dari aspek kepraktisan dan ekonomi, penelitian ini belum dapat menyimpulkan bahwa minyak zaitun 60°C lebih efisien waktu atau lebih cost-effective dibandingkan xylol karena waktu operasional, konsumsi energi, penggunaan peralatan, dan biaya per preparat belum dianalisis secara langsung. Oleh karena itu, penelitian lanjutan perlu mengevaluasi variasi suhu dan waktu deparafinisasi, jumlah sampel yang lebih besar, berbagai jenis jaringan dan metode pewarnaan, serta analisis waktu operasional, konsumsi bahan, kebutuhan energi, dan biaya per preparat untuk menentukan kelayakan penerapan metode minyak zaitun secara lebih komprehensif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Anwar Medika atas dukungan fasilitas dan sarana yang diberikan selama pelaksanaan penelitian. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi (Ditjen Diktiristek) atas dukungan pendanaan melalui skema hibah yang telah mendukung pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam proses persiapan, pelaksanaan, hingga penyelesaian penelitian ini.

REFERENCES

- Badjuri, F. Z., Durachim, A., Wiryanti, W., Riyani, A., & Dani, M. (2023). PENGARUH VARIASI SUHU DAN WAKTU VIRGIN COCONUT OIL PADA PROSES DEPARAFINISASI PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN TERHADAP KUALITAS PREPARAT. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1 SE-Articles), 172–181. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1473>
- Bordoloi, B., Jaiswal, R., Tandon, A., Jayaswal, A., Srivastava, A., & Gogoi, N. (2022). Evaluation and comparison of the efficacy of coconut oil as a clearing agent with xylene. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology : JOMFP*, 26(1), 72–76. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_486_20
- Cavalcanti, E., Scaramuzzi, M., & Armentano, R. (2022). A new reliable method for tissue preservation. *Pathology, Research and Practice*, 234, 153910. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.153910>
- 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/https://doi.org/10.1002/jat.70029>
- Dunn, C., Brettle, D., Cockroft, M., Keating, E., Revie, C., & Treanor, D. (2024). Quantitative assessment of H&E staining for pathology: development and clinical evaluation of a novel system. *Diagnostic Pathology*, 19(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13000-024-01461-w>
- Dunn, C., Brettle, D., Hodgson, C., Hughes, R., & Treanor, D. (2025). An international study of stain variability in histopathology using qualitative and quantitative analysis. *Journal of Pathology Informatics*, 17, 100423. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpi.2025.100423>
- 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 & Microbiology*, 68(2), 344–348. https://doi.org/10.4103/ijpm.ijpm_515_24
- Kassab, M., Jehanzaib, M., Başak, K., Demir, D., Keles, G. E., & Turan, M. (2024). FFPE++: Improving the quality of formalin-fixed paraffin-embedded tissue imaging via contrastive unpaired image-to-image translation. *Medical Image Analysis*, 91, 102992. <https://doi.org/10.1016/j.media.2023.102992>
- Likhithaswamy, H. R., Madhushankari, G. S., Selvamani, M., Mohan Kumar, K. P., Kokila, G., & Mahalakshmi, S. (2022). Assessing the Quality of Long-Term Stored Tissues in Formalin and in Paraffin-Embedded Blocks for Histopathological Analysis. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 10(1), 23–29. https://doi.org/10.4103/JMAU.JMAU_53_20

- Lorsuwannarat, N., Kaewsanit, A., Charoenpitakchai, M., Ruangpratheep, C., Arnutti, P., & Nimmanon, T. (2024). Optimizing Re-staining Techniques for the Restoration of Faded Hematoxylin and Eosin-stained Histopathology Slides: A Comparative Study. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 72(11–12), 733–742. <https://doi.org/10.1369/00221554241299861>
- Lunetta, M., Grivois, M., Hansen, C., Seery, P., Felty, C., Rizzo, E., & Jackson, C. (2022). Comparative study of two reprocessing methods for formalin fixed paraffin embedded tissue. *Journal of Histotechnology*, 45(3), 120–128. <https://doi.org/10.1080/01478885.2022.2062532>
- Ma, Z. Y., Zhang, X. F., Hu, Y. Z., Zhu, M. Da, Jin, J., & Qian, P. (2024). Comparison of staining quality between rapid and routine hematoxylin and eosin staining of frozen breast tissue sections: an observational study. *The Journal of International Medical Research*, 52(6), 3000605241259682. <https://doi.org/10.1177/03000605241259682>
- Marinho, P. F., & Hanscheid, T. (2023). A simple heat-based alternative method for deparaffinization of histological sections significantly improves acid-fast staining results for Mycobacteria in tissue. *MethodsX*, 10, 102079. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102079>
- Marinho, P. F., Vieira, S. L., Carvalho, T. G., Peleteiro, M. C., & Hanscheid, T. (2023). A novel and simple heat-based method eliminates the highly detrimental effect of xylene deparaffinization on acid-fast stains. *American Journal of Clinical Pathology*, 160(1), 81–88. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqad016>
- Nazhiifah, T. S., & Sofyanita, E. N. (2023). Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) Pada Histologi Kulit Mencit (Mus Musculus) Berdasarkan Ketebalan Pemotongan 3 Mm, 6 Mm Dan 9 Mm. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 6(1), 474–480. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v6i1.6090>
- Saribu, R. L. C. D., Zusrina, L. M., Supraitno, M. E., Nuriliani, A., Retnoaji, B., Saragih, H. T. S. S. G., & Rohmah, Z. (2023). The Potency of Olive Oil, Coconut Oil, and Bleached Palm Oil as Clearing Agent in Histological Preparation. *Berkala Ilmiah Biologi*, 14(2), 48–54. <https://doi.org/10.22146/bib.v14i2.6528>
- 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>
- Sofyanita, E. N., Iswara, A., & Priyatno, D. (2022). Olive Oil as a Substitute for Xylene in Histological Tissue Processing for MiceTMs Skin and Liver by Hematoxyline Eosin Staining: A Comparative Study. *Medical Laboratory Network*, 4(2 SE-Original Articles), 117–124. <https://doi.org/10.31983/jlm.v4i2.8688>
- Sofyanita, E. N., & Siwi, U. P. (2024). Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada Histologi Ginjal Mencit (Mus musculus) Berdasarkan Ketebalan Mikrotom: Differences in Hemtoxylin Eosin Staining Results in Mice Kidney Histology (Mus musculus) Based on Microtome Thickness. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 10(1 SE-Articles), 362–370. <https://doi.org/10.33084/jsm.v10i1.5051>
- Sonjaya, R. P., Aliyya, F. R., Naufal, S., & Nursalman, M. (2025). Pengujian Prasyarat Analisis Data Nilai Kelas: Uji Normalitas dan Uji Homogenitas. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 9(1 SE-Articles of Research), 1627–1639. <https://jptam.org/index.php/jptam/article/view/24426>
- Thajudeen, A., Srinivasan, S., Govindarajan, G., & Shanmugam, A. (2022). A comparative study of efficacy of coconut oil, lemon water and dishwashing liquid as surrogates to xylene. *Environmental Analysis, Health and Toxicology*, 37(3), e2022026-0. <https://doi.org/10.5620/eaht.2022026>