

## Minyak Nabati sebagai Pengganti Bahan Kimia Toksik pada Proses *Clearing* Jaringan Histopatologi

Balqis Mezzaluna D'azzuri<sup>1</sup> Susianti<sup>2</sup> Nisa Karima<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>3</sup>Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

Tahapan *clearing* (pembersihan) merupakan tahapan penting dalam mempersiapkan histologi jaringan yang akan diperiksa di bawah mikroskop cahaya, *clearing* dilakukan untuk membersihkan jaringan sehingga memungkinkan untuk dilakukan penyisipan dengan bahan penyetat. Xylene merupakan bahan yang paling banyak digunakan karena kompatibilitasnya yang sangat baik dengan bahan penyetat seperti alkohol maupun paraffin. Namun, xylene diketahui mempunyai efek toksik yang beragam bagi tubuh yang terpajan. Banyak bahan alternatif yang ditemukan dapat menjadi pengganti xylene sebagai bahan *clearing* dalam proses pembuatan jaringan histopatologi. Bahan tersebut berupa minyak nabati termasuk minyak kelapa, minyak kacang tanah, minyak zaitun, minyak sawit, dan minyak jagung. Bahan-bahan ini dapat digunakan sebagai agen *clearing* tanpa mempengaruhi susunan jaringan histologi, lebih terjangkau, dan tidak menimbulkan masalah kesehatan.

**Kata kunci:** Minyak nabati, proses *clearing*, xylene

## Vegetable Oils as A Substitute of Toxic Chemicals in The Histopathological Clearing Process

### Abstract

The clearing stage is an important step in preparing tissue histology to be examined under a light microscope, clearing is done to clean the tissue so that it is possible to insert it with an embedding material. Xylene is the material most widely used because of its excellent compatibility with fixing materials such as alcohol and paraffin. However, xylene is known to have various toxic effects on the exposed body. Many alternative materials have been found to replace xylene as a clearing agent in the process of making histopathological tissues. These ingredients are vegetable oils including coconut oil, peanut oil, olive oil, palm oil, and corn oil. These materials can be used as clearing agents without affecting the histological tissue composition, are more affordable, and do not cause health problems.

**Keywords:** Clearing process, vegetable oil, xylene

Korespondensi: Balqis Mezzaluna D' Azzuri, Jl. Muradi no.52 Sungai Penuh, Jambi, HP 081340332212, Email balqismezzaluna@gmail.com

### Pendahuluan

Jaringan yang diproses dalam histologi meliputi beberapa tahapan seperti fiksasi, dehidrasi, *clearing*, dan infiltrasi.<sup>1</sup> Tahapan *clearing* (pembersihan) merupakan tahapan penting dalam mempersiapkan histologi jaringan yang akan diperiksa di bawah mikroskop cahaya, *clearing* dilakukan untuk membersihkan jaringan sehingga memungkinkan untuk dilakukan penyisipan dengan bahan penyetat seperti paraffin.<sup>2</sup> Sebelum infiltrasi bahan embedding, jaringan harus dibersihkan dari alkohol dan dehidran lainnya sebagai bagian dari produksi

potongan histologis. Xylene adalah agen pembersih yang digunakan dalam histoteknologi untuk jaringan sehingga menjadi transparan.<sup>3</sup>

Xylene berasal dari kata Yunani "xylo", yang berarti "kayu". Dengan rumus kimia (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, xylene dapat berbentuk tiga isomer: xilena, xilol, atau dimetilbenzena. Xylene ditemukan oleh Auguste Cahours pada tahun 1850 dan diakui sebagai komponen tar kayu. Xylene adalah cairan mudah terbakar yang tidak berwarna, hidrokarbon berbau harum yang banyak digunakan dalam stok patologi untuk pemrosesan, pewarnaan, dan pembersihan

jaringan. Varian xylene dengan gugus metil yang berbeda pada cincin benzena meliputi para-, orto-, dan meta-xilena (m-, o-, dan p-xilena).<sup>4</sup> Banyak ahli histologi menyukai xylene karena dengan cepat menghilangkan alkohol dari jaringan, membuat jaringan transparan dan membuat infiltrasi parafin lebih mudah. Selain itu, xylene digunakan sebagai coverslipping, pelarut deparafinisasi, dan pelarut untuk membersihkan mikroskop objektif setelah aplikasi minyak imersi sintetik, dan pelarut untuk mendaur ulang slide yang sudah usang. Xylene juga dapat digunakan pada industri karet, percetakan, dan kulit menggunakan xylene sebagai pelarut.<sup>5</sup>

Namun, OSHA (Occupational Safety and Health Administration) yaitu badan keselamatan dan kesehatan kerja pemerintah AS, telah mengklasifikasikan xylene sebagai zat biohazardous. Walaupun tidak ditemukan bukti bahwa xylene menjadi penyebab kanker atau mutagenesis maupun berbahaya untuk rantai makanan, namun xylene menjadi berbahaya apabila mengenai saluran pernapasan. Nyeri dada dan sesak napas dapat terjadi akibat iritasi hidung, tenggorokan, dan paru-paru yang terhirup. Paparan jangka panjang dapat menyebabkan sulit tidur, tremor, kurang konsentrasi, dan kehilangan memori jangka pendek. Hal ini juga dapat menyebabkan pusing, sakit kepala, mual, dan muntah. Studi pada hewan menunjukkan bahwa kontak yang terlalu lama dengan xylene merusak jaringan paru-paru, hati, kulit, dan sistem saraf.<sup>6,7</sup> Tubuh seseorang yang sering terkontaminasi dengan xylene harus diperiksa setidaknya satu tahun sekali untuk mengetahui pajanan yang diterima masih dalam tingkat yang dapat ditoleransi atau tidak.<sup>8</sup>

Dalam beberapa tahun terakhir, sejumlah alternatif xylene telah dikembangkan untuk digunakan dalam industri, termasuk reagen yang terbuat dari limonene, hidrokarbon alifatik, minyak nabati, dan minyak mineral.<sup>9</sup> Bahan pengganti xylene yang digunakan untuk *clearing*

harus memenuhi beberapa kriteria sehingga dapat digunakan, seperti tidak mudah terbakar, efek samping yang minimal, hemat biaya, dan tetap mempertahankan morfologi serta pewarnaan jaringan selama proses berlangsung.<sup>4</sup> Berdasarkan latar belakang tersebut, artikel ini membahas mengenai beberapa alternatif yang dapat digunakan sebagai pengganti xylene dalam proses *clearing* jaringan histologi.

## Metode

Metode yang digunakan pada artikel ini adalah dengan melakukan analisis faktual berdasarkan data dan teori dari berbagai literatur dan meringkas topik bahasan sehingga mendapat suatu kesimpulan dari topik yang dibahas. Tujuan dari metode ini adalah untuk meningkatkan pengetahuan dan pemahaman mengenai bahan alternatif xylene yang dapat digunakan sebagai bahan *clearing* jaringan histologi.

## Pembahasan

Bahan embedding seperti paraffin dalam proses histologi dapat dihambat infusinya oleh air yang terkandung di dalam jaringan, hal ini menyebabkan jaringan perlu didehidrasi menggunakan alkohol atau dehidran lainnya untuk menggantikan air di jaringan. Bahan *clearing* kemudian diperlukan untuk menggantikan dehidran dengan reagen yang akan larut dengan bahan embedding. Pada umumnya, bahan *clearing* merupakan bahan yang paling berbahaya yang digunakan di lab seperti chloroform, benzene, xylene, toluene, limonene, carbon tetrachloride, dan minyak alami seperti minyak citrus dan minyak cedarwood. Diantara bahan-bahan tersebut, xylene merupakan bahan yang paling banyak digunakan karna kompatibilitasnya yang sangat baik dengan alkohol maupun paraffin.<sup>1</sup>

Pada awalnya, xylene dianggap sebagai bahan *clearing* terbaik daripada bahan kimia lainnya seperti minyak anilin, benzena, kloroform, toluena, dan dioksan hingga tahun 1970-an. Namun, semakin berkembangnya ilmu pengetahuan, xylene diketahui mempunyai efek

toksik bagi tubuh yang terpajan. Efek toksik yang ditimbulkan beragam mulai dari neurotoksisitas yang intens, penyakit kardiovaskular dan ginjal, kanker, diskrasia darah, infeksi kulit, gangguan lambung, gangguan sistem muskuloskeletal, dan fetotoksitas.<sup>10</sup>

Penggunaan alternatif xylene yang lebih terjangkau dan lebih aman telah banyak ditemukan.<sup>1</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Tanwar (2022) menunjukkan bahwa minyak kelapa adalah alternatif yang bagus dan efektif sebagai pengganti Xylene dalam pemrosesan dan pewarnaan jaringan.<sup>4</sup> Minyak kelapa sama baiknya dengan Xylene dalam proses dewaxing dan pembersihan jaringan untuk pewarnaan H&E, dan dapat diterapkan pada pemrosesan jaringan normal dengan cara yang sama. Minyak kelapa dapat digunakan sebagai bahan pembersih tanpa memengaruhi detail histologis sampel jaringan, dan juga tidak menyebabkan penyusutan jaringan yang dapat diamati selama pemrosesan, menjaga detail jaringan. Minyak kelapa adalah produk yang murah, tersedia, dan alami sehingga tidak memiliki efek samping untuk kesehatan bagi penggunaannya.

Menurut penelitian Saravanakumar (2020) juga menunjukkan minyak kelapa murni dan minyak kacang tanah murni dapat digunakan sebagai alternatif untuk "xylene" yang lebih terjangkau, murah, dan tidak terdapat efek samping berbahaya.<sup>10</sup> Kedua bahan ini dapat digunakan sebagai agen *clearing* (pembersih) di laboratorium histopatologi tanpa mempengaruhi kaliber data histologi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Alwahaibi (2018) yang juga menunjukkan bahwa minyak inti sawit, kelapa, dan kacang tanah berhasil membersihkan bagian kayu yang diproses seperti yang dilakukan xylene.<sup>5</sup> Minyak ini tidak berbahaya untuk digunakan dan tidak sulit untuk dibersihkan, namun menimbulkan sedikit bau busuk dari minyak inti sawit. Minyak ini dapat digunakan karena tidak ditemukan adanya bukti gangguan pada gambaran jaringan, intensitas transparansi yang tidak mencukupi, maupun ancaman terhadap resiko kesehatan serta dapat

menurunkan biaya persiapan prepat karena minyak nabati yang digunakan jauh lebih murah.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Sofyanita (2022) menunjukkan bahwa minyak zaitun juga dapat digunakan sebagai pengganti xylene dalam proses *clearing* histologi karena sifat non-polarnya.<sup>2</sup> Lipid dalam jaringan bermacam-macam dari non-polar (cadangan lemak) hingga agak polar/polar sedang (gliserol) dan sangat polar (fosfolipid), sehingga karakter reagen polar dan nonpolar diperlukan untuk pemrosesan jaringan. Air dan lemak harus dihilangkan dari jaringan karena dianggap sebagai "kotoran" dan akan menghambat proses penyisipan karena parafin yang digunakan untuk penyisipan bersifat nonpolar. Etanol alkohol dan alkohol bertingkat bersifat polar dan menghilangkan lipid serta lemak dari jaringan. Kemudian, zat non-polar diperlukan untuk menggantikan etanol dan alkohol dalam jaringan setelah menghilangkan lemak atau lipid. Zat non polar ini juga nantinya akan diganti dengan paraffin yang juga non polar.

Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2020) menunjukkan bahwa minyak goreng nabati yang digunakan dalam penelitian yaitu minyak kelapa sawit, minyak jagung, dan minyak kelapa dapat digunakan sebagai agen pembersih alternatif dalam sediaan histologis karena tidak hanya baik dalam membersihkan jaringan tetapi juga tidak berbahaya, tidak berbau, lebih mudah ditemukan, ekonomis, dan dapat mempertahankan susunan seluler dengan baik serta memberikan kualitas pewarnaan yang baik.<sup>3</sup>

### Ringkasan

Tahapan *clearing* (pembersihan) merupakan tahapan penting dalam mempersiapkan histologi jaringan yang akan diperiksa di bawah mikroskop cahaya, *clearing* dilakukan untuk membersihkan jaringan sehingga memungkinkan untuk dilakukan penyisipan dengan bahan penyemat. Xylene merupakan bahan yang paling banyak digunakan karena kompatibilitasnya yang sangat baik dengan bahan penyemat seperti alkohol maupun paraffin. Namun, xylene diketahui mempunyai efek toksik

yang beragam bagi tubuh yang terpajan. Banyak bahan alternatif yang ditemukan dapat menjadi pengganti xylene sebagai bahan clearing dalam proses pembuatan jaringan histopatologi. Bahan tersebut berupa minyak nabati termasuk minyak kelapa, minyak kacang tanah, minyak zaitun, minyak sawit, dan minyak jagung. Bahan-bahan ini dapat digunakan sebagai agen *clearing* tanpa mempengaruhi susunan jaringan histologi, lebih terjangkau, dan tidak menimbulkan masalah kesehatan

### Simpulan

Bahan pembersih yang paling umum digunakan di laboratorium adalah kloroform, benzena, xylene, toluena, limonena, karbon tetraklorida, dan minyak alami. Xylene adalah agen *clearing* (pembersih) yang paling banyak digunakan karena kompatibilitasnya dengan alkohol dan parafin. Namun, xylene memiliki efek toksik pada tubuh yang terpapar, seperti neurotoksisitas, penyakit kardiovaskular dan ginjal, kanker, diskrasia darah, infeksi kulit, gangguan lambung, gangguan sistem muskuloskeletal, dan fetotoksisitas. Alternatif pengganti xylene telah ditemukan minyak kelapa, minyak kacang tanah, minyak zaitun, minyak sawit, dan minyak jagung. Bahan-bahan ini dapat digunakan sebagai agen *clearing* tanpa mempengaruhi susunan jaringan histologi, lebih terjangkau, dan tidak menimbulkan masalah kesehatan.

### Daftar Pustaka

1. Metgud R, Astekar MS, Soni A, Naik S, Vanishree M. Conventional xylene and xylene-free methods for routine histopathological preparation of tissue sections. *Biotech Histochem*. 2013;88(5):235–41.
2. Sofyanita EN, Iswara A, Priyatno D. Minyak Zaitun Sebagai Pengganti xylene pada Prosesing Jaringan Histologis Untuk Pewarnaan Kulit dan Hepar Mencit dengan Hematoxylin Eosin: Sebuah Studi Perbandingan. *Jar Lab Medis*. 2022;4(2):117–24.
3. Rahmawati S, Wulan AJ, Utami N, Jaya BPD. Preliminary study : The potency of vegetable cooking oil as alternative clearing agent for histological preparation. *Int confrence Agromedicine Med Sci [Internet]*. 2020;1–8. Available from: [http://repository.lppm.unila.ac.id/25826/1/Full Paper ICAMS-Selvi Rahmawati-UNILA.pdf](http://repository.lppm.unila.ac.id/25826/1/Full%20Paper%20ICAMS-Selvi%20Rahmawati-UNILA.pdf)
4. Tanwar M, Sharma M, Karthikeyan R, Kumar M, Tyagi V. Usage of coconut oil as a biofriendly xylene substitute in tissue processing and staining. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2022;6(S1):660–75.
5. Alwahaibi N, Aljaradi S, Alazri H. Alternative to xylene as a clearing agent in histopathology. *J Lab Physicians*. 2018;10(2):189–93.
6. Prema V, Prasad H, Srichinthu KK, Kumar SS, Rajkumar K, Marudhamani C. Biofriendly Substitutes for Xylene in Deparaffinization. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(S1):S623–30.
7. Clough SR, Haley, Aldrich. Xylene. *Encycl Toxicol Third Ed*. 2014;4:989–92.
8. Rajan ST, Malathi N. Health hazards of xylene: A literature review. *J Clin Diagnostic Res*. 2014;8(2):271–4.
9. Adeniyi IM, Adejoba OR, Akinlabi FM, Alao OJ. Vegetable Oils as Clearing Agents. *Achiev Life Sci [Internet]*. 2016;10(1):1–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.als.2016.05.001>
10. Saravanakumar P, Bharanidharan R, Ramadoss R, Aravind A, Kumar R. Efficacy of “groundnut oil” and “coconut oil” as a substitute for “xylene” in clearing tissues samples – A comparative study. *J Res Dent Sci*. 2019;10(4):194–6.