

PERBANDINGAN KUALITAS WARNA PADA PREPARAT JARINGAN MENGUNAKAN METIL ESTER SULFONAT DAN XYLOL SEBAGAI AGEN DEPARAFINISASI

Comparison of Color Quality in Tissue Preparations using Methyl Ester Sulfonate And Xylol as a Deparaffinization Agent

Syafa Aulia Rahmah^{1*}, Adang Durachim², Wiwin Wiryanti³, Asep lin Nur Indra⁴

^{1*,2,3,4} Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung

^{1*}Email: syafafasyafa99@gmail.com

²Email: adangdurachim@gmail.com

³Email: wiryantiwiwin@gmail.com

⁴Email: asepiinnurindra@gmail.com

ABSTRACT

Deparaffinization is the process of decaying the remnants of paraffin in tissue preparations. Deparaffinization aims to make the dye that will be given to the preparation fully absorbed so that the preparation can be colored properly. This deparaffinization process uses xylol solution in its immersion. Methyl Ester Sulfonate (MES) is one of the vegetable oil-based anionic surfactants that can dissolve in water and has a long carbon chain that is soluble in oil and vaseline. The purpose of this study was to determine whether Methyl Ester Sulfonate can be used as a deparaffinizing agent for tissue preparations. The sample in this study was appendiceal tissue as many as 30 units, each unit of tissue made into 2 tissue preparations so that it became 60 tissue preparations, namely 30 tissues using xylol as a deparaffinizing agent and 30 tissues using methyl ester sulfonate. The parameters of this study were the clarity of the color of the nucleus and cytoplasm, the uniformity of cell color, and the contrast of the color of the nucleus and cytoplasm qualitatively and quantitatively. The statistical test used was Independent T-Test test if the data were normally distributed and Mann Whitney test if the data were not normally distributed. Based on the Independent T-Test test, the Sig value was obtained. 0.951 and 0.102, both of which are >0.05, meaning that there is no significant difference between the use of xylol and 10% methyl ester sulfonate as a deparaffinizing agent.

Keywords : Deparaffinization, Appendix, Methyl Ester Sulfonat

ABSTRAK

Deparafinisasi adalah proses peluruhan sisa-sisa parafin yang ada pada preparat jaringan. Deparafinisasi bertujuan agar zat warna yang akan diberikan pada preparat sepenuhnya terserap sehingga preparat dapat terwarnai dengan baik. Proses deparafinisasi ini menggunakan larutan *xylol* dalam perendamannya. Metil Ester Sulfonat (MES) adalah salah satu surfaktan anionik berbahan dasar minyak nabati yang dapat larut dalam air dan memiliki rantai karbon panjang yang larut dalam oil dan vaselin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah Metil Ester Sulfonat dapat digunakan sebagai agen deparafinisasi preparat jaringan. Sampel pada penelitian ini adalah jaringan apendiks sebanyak 30 unit yang masing-masing unit jaringan dijadikan 2 preparat jaringan sehingga menjadi 60 preparat

jaringan , yaitu 30 jaringan yang menggunakan *xyloI* sebagai agen deparafinisasi dan 30 jaringan yang menggunakan metil ester sulfonat. Parameter penelitian ini adalah dinilai kejelasan warna inti dan sitoplasma, keseragaman warna sel, serta kontras warna inti dan sitoplasma secara kualitatif dan kuantitatif. Uji statistik yang digunakan adalah uji Independent T-Test bila data terdistribusi normal dan uji Mann Whitney bila data tidak terdistribusi normal. Berdasarkan uji Independent T-Test didapatkan nilai Sig. Sebesar 0.951 dan 0.102 yang mana keduanya bernilai >0.05 artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara penggunaan *xyloI* dan metil ester sulfonat 10% sebagai agen deparafinisasi.

Kata kunci : Deparafinisasi, Apendiks, Metil Ester Sulfonat

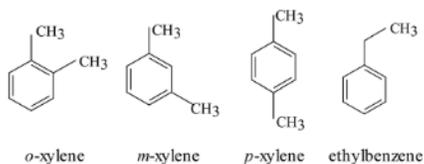
PENDAHULUAN

Histoteknik adalah metode pembuatan sediaan atau preparat dari suatu spesimen jaringan dengan melalui proses tertentu hingga dapat dianalisa dan diamati. Pada pembuatan preparat jaringan diperlukan tiga tahapan proses, yaitu proses pemotongan jaringan, pembuatan blok parafin, dan proses pewarnaan ¹.

Pada proses pewarnaan terdapat tahapan deparafinisasi. Deparafinisasi adalah proses peluruhan sisa-sisa parafin yang ada pada preparat jaringan yang akan

diwarnai bertujuan agar zat warna yang akan diberikan pada preparat sepenuhnya terserap sehingga preparat dapat terwarnai dengan baik. Proses deparafinisasi ini menggunakan larutan *xyloI* dalam perendamannya.

XyloI merupakan larutan nonpolar yang dapat melarutkan zat yang bersifat hidrofobik seperti parafin. *XyloI* memiliki kemampuan yang baik dalam meluruhkan parafin, namun bersifat toksik, baik yang bersifat karsinogenik maupun non karsinogenik ². *XyloI* juga bersifat sangat mudah terbakar dan mudah menguap ³.



Klasifikasi bahan *xyloI* menurut Lembar Data Keselamatan Bahan

Peraturan (EC) no. 1907/2006⁴ yaitu *xyloI* merupakan bahan cair yang mudah

No	Sistem	Efek
1	Sistem saraf	100-200 ppm : Mual dan sakit kepala
		200-500 ppm : Muntah, pusing, lemah
		800-10.000 ppm : pusing, bingung, berbicara tidak jelas, kehilangan keseimbangan, dan berdengung pada telinga
		>10.000 : Kehilangan kesadaran, kematian
2	Gastrointestinal Track (GIT)	Mual, muntah, dan tidak nyaman pada lambung
3	Mata, hidung, dan tenggorokan	Iritasi dan kerusakan mata akibat percikan tidak sengaja
4	Otot	Mengurangi daya tahan dan mengurangi kekuatan otot dan ekstremitas
5	Kulit	Iritasi, dermatitis, kulit kering, mengelupas, dan pecah-pecah pada kulit
6	Kanker	Karsinogenik
7	Reproduksi	Osifikasi tertunda dan kontaminasi ASI
8	Paru-paru	200 ppm : iritasi, nyeri dada, dan sesak napas
9	Hati dan ginjal	Paparan ekstrim menyebabkan edema paru Pada paparan tinggi dapat menyebabkan luka

menyala dengan kategori 3, memiliki toksisitas akut pada penghirupan dan kulit dengan kategori 4, dan memiliki toksisitas pada organ spesifik. Harga *xyloI* juga termasuk dalam kagetori yang mahal.

Metil Ester Sulfonat (MES) adalah salah satu surfaktan anionik berbahan dasar minyak nabati yang banyak digunakan untuk produk pembersih seperti sabun dan deterjen ⁵. Surfaktan minyak nabati memiliki keunggulan sifatnya yang ramah lingkungan (*biodegradable*), pembusaan yang rendah dan sifat deterjensi yang baik ⁶. MES dapat digunakan sebagai pengganti *xyloI* sebagai agen deparafinisasi dilihat dari sifat MES yang mengandung gugus hidrofobik dan hidrofilik. Metil ester sulfonat (MES) berfungsi untuk menurunkan tegangan antarmuka/interfacial tension (IFT) minyak dan air sehingga dapat bercampur dengan

homogen⁷. Apabila sisi hidrofobik surfaktan telah mengikat lemak atau paraffin yang terkumpul, surfaktan akan membentuk kelompok yang disebut micelle⁸. Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang “Perbandingan Kualitas Warna pada Preparat Jaringan menggunakan Metil Ester Sulfonat dan *Xylo*l Sebagai Agen Deparafinisasi”.

METODE

Metode dan jenis penelitian yang digunakan yaitu bersifat deskriptif yang dilakukan di laboratorium Klinik PT Duta Medika pada bulan Mei 2024 sampai Juni 2024. Pada penelitian ini dilakukan percobaan pada jaringan apendiks yang dilakukan perlakuan pada umumnya sampai tahap *processing* jaringan. Selanjutnya dilakukan pewarnaan hematoxylin-eosin dengan penggunaan Metil ester sulfonat 10% pada suhu 80°C dan *xylo*l sebagai agen deparafinisasi. Selanjutnya dilakukan pengamatan kualitas warna hasil pewarnaan jaringan dengan melihat kontras warna inti dan sitoplasma jaringan dengan aplikasi ImageJ serta dilakukan pengamatan oleh panelis menggunakan mikroskop.

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh jaringan manusia yang sudah terfiksasi. sedangkan sampel yang digunakan adalah salah satu jaringan manusia yaitu apendiks yang sudah terfiksasi selama maksimal 1 minggu sebelum dilakukan tahapan *processing*. Sampel jaringan apendiks didapatkan dari arsip jaringan yang berada di laboratorium. Pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jaringan sebanyak 30 unit.

Data yang digunakan dalam penelitian adalah data primer dari penilaian kualitatif dan kuantitatif kualitas warna preparat pada jaringan apendiks dengan pewarnaan. Kualitas preparat dilihat dari kejelasan warna inti dan sitoplasma, keseragaman warna inti dan sitoplasma, serta kontras warna inti sel dan sitoplasma menggunakan aplikasi ImageJ pada lapang pandang bagian mukosa jaringan apendiks. Seluruh data skala nilai kuantitatif yang didapatkan diolah menggunakan SPSS menggunakan uji Independent T-test. Apabila didapatkan nilai signifikan > 0.05 maka dapat dinyatakan tidak terdapat perbedaan bermakna pada kedua data yang didapat. Akan tetapi apabila didapatkan nilai signifikan < 0.05 maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan bermakna pada kedua data yang didapat.

HASIL

1. Penilaian Kualitatif Warna Preparat Jaringan Apendiks

Didapatkan data nilai kualitas preparat jaringan apendiks menggunakan *xylo*l sebagai agen deparafinisasi sebagai berikut:

Keterangan	Panelis 1 (Zainal Mutaqqin A.md.AK)	Panelis 2 (Dani Mahmud, S.ST. M.M.Kes)	Panelis 3 (Adang Durachim, S.Pd., m.Kes.)	Modus
Preparat <i>Xylo</i> l-1	3	2	3	3

Preparat <i>Xylol-2</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-3</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-4</i>	3	2	2	2
Preparat <i>Xylol-5</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-6</i>	3	3	2	3
Preparat <i>Xylol-7</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-8</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-9</i>	3	3	2	3
Preparat <i>Xylol-10</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-11</i>	3	2	2	2
Preparat <i>Xylol-12</i>	3	2	2	2
Preparat <i>Xylol-13</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-14</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-15</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-16</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-17</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-18</i>	3	2	3	3
Preparat <i>Xylol-19</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-20</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-21</i>	3	3	2	3
Preparat <i>Xylol-22</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-23</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-24</i>	3	2	3	3
Preparat <i>Xylol-25</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-26</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-27</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-28</i>	3	3	2	3
Preparat <i>Xylol-29</i>	3	3	3	3
Preparat <i>Xylol-30</i>	3	3	3	3

Berikut data nilai kualitas warna preparat jaringan apendiks menggunakan metil ester sulfonat sebagai agen deparafinisasi:

Keterangan	Panelis 1 (Zainal Mutaqqin A.md.AK)	Panelis 2 (Dani Mahmud, S.ST. M.M.Kes)	Panelis 3 (Adang Durachim, S.Pd., m.Kes.)	Modus
Preparat MES-1	3	2	2	2
Preparat MES-2	3	3	3	3
Preparat MES-3	3	3	3	3
Preparat MES-4	3	3	3	3
Preparat MES-5	3	3	2	3
Preparat MES-6	2	3	2	2
Preparat MES-7	3	3	3	3
Preparat MES-8	3	2	3	3
Preparat MES-9	3	3	3	3
Preparat MES-10	3	3	2	3
Preparat MES-11	3	3	3	3
Preparat MES-12	3	3	3	3
Preparat MES-13	3	2	3	3
Preparat MES-14	3	2	3	3
Preparat MES-15	3	3	2	3
Preparat MES-16	3	2	3	3
Preparat MES-17	3	3	3	3
Preparat MES-18	3	2	3	3
Preparat MES-19	2	3	2	2
Preparat MES-20	3	2	3	3
Preparat MES-21	2	2	3	2
Preparat MES-22	3	3	3	3
Preparat MES-23	3	2	2	2
Preparat MES-24	3	2	3	3

	Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	
Preparat MES-25 Keterangan	3	3	3	3 Modus
Preparat MES-26	3	3	3	3
Preparat MES-27	3	3	3	3
Preparat MES-28	3	3	3	3
Preparat MES-29	3	3	3	3
Preparat MES-30	3	3	3	3

Berdasarkan data kualitas warna preparat yang telah didapat dari pembacaan secara mikroskopis oleh tiga orang panelis pada kelompok kontrol menggunakan *xyloI* mendapat nilai modus 3 (baik) dan pada kelompok perlakuan menggunakan metil ester sulfonat didapatkan nilai modus 3 (baik).

2. Penilaian Kuantitatif Warna Preparat Jaringan Apendiks

Penilaian kuantitatif kualitas warna preparat didapat berdasarkan kontras warna inti sel dan sitoplasma dari nilai mean optical density warna Haematoxylin-Eosin dari software ImageJ. Berikut hasil nilai kontras warna dari inti sel dan sitoplasma jaringan apendiks:

Sampel	Nilai Kontras Warna Inti Sel Jaringan (OD)		Nilai Kontras Warna Sitoplasma Jaringan (OD)		
	<i>XyloI</i>	Metil ester Sulfonat	<i>XyloI</i>	Metil Sulfonat	ester
1	181.194	198.781	192.149	194.557	
2	181.103	178.061	196.178	192.926	
3	167.439	172.750	211.095	198.443	
4	175.093	171.311	212.518	208.331	
5	199.131	183.762	182.930	174.275	
6	173.578	174.856	211.048	191.238	
7	168.568	168.312	212.474	213.583	
8	158.428	157.912	215.244	211.400	
9	170.361	174.404	204.930	202.348	
10	164.569	168.109	206.121	207.045	
11	181.153	181.098	191.693	205.333	
12	170.091	176.460	204.959	188.279	
13	175.787	164.505	203.362	209.262	

Sampel	Nilai Kontras Warna Inti Sel Jaringan (OD)		Nilai Kontras Warna Sitoplasma Jaringan (OD)	
	<i>XyloI</i>	Metil ester Sulfonat	<i>XyloI</i>	Metil ester Sulfonat
14	177.145	178.508	201.333	201.091
15	168.330	158.844	210.511	211.644
16	166.465	161.313	211.257	210.514
17	177.610	183.996	198.343	191.047
18	172.019	176.401	202.763	198.222
19	165.543	166.451	205.704	189.682
20	180.780	163.755	194.466	190.543
21	172.069	174.553	198.921	190.538
22	171.137	170.643	193.632	195.524
23	164.426	169.271	207.456	200.798
24	185.459	184.375	192.204	195.656
25	162.647	166.255	211.349	200.363
26	164.112	169.812	201.135	200.318
27	161.008	175.432	197.671	196.106
28	183.353	166.925	198.120	199.083
29	176.128	171.869	205.138	202.263
30	167.810	169.715	205.971	203.897

Data kontras warna yang didapat selanjutnya diolah menggunakan uji normalitas. Berikut tabel uji normalitas dari data nilai kontras warna inti sel preparat jaringan apendiks yang telah dilakukan.

Nilai OD	<i>Tests of normality Shapiro-Wilk</i>			
	Kelompok Kontras Warna Inti Sel		Kelompok Kontras Warna Sitoplasma	
	<i>XyloI</i>	Metil Ester Sulfonat	<i>XyloI</i>	Metil Ester Sulfonat
<i>Statistic</i>	0.950	0.956	0.960	0.960
<i>Df</i>	30	30	30	30
<i>Sig.</i>	0.173	0.245	0.306	0.319

Nilai signifikan inti sel sampel memenuhi syarat nilai signifikansi dengan nilai Sig. 0.173 pada *xyloI* dan Sig. 0.245 pada metil ester sulfonat. Nilai signifikan sitoplasma juga memenuhi syarat dengan Sig. 0.306 pada *xyloI* dan Sig. 0.319 pada metil ester sulfonat. Nilai signifikansi

inti sel dan sitoplasma >0.05 yang berarti data yang diperoleh berdistribusi normal. Dan dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan uji Independent T-Test.

Uji Independent T-Test		
Nilai OD	Kelompok Kontras Warna Inti Sel	Kelompok Kontras Warna Sitoplasma
	Levene's Test for Equality of Variances	
Sig.	0.813	0.797
	T-Test for Equality of Means	
Sig. (2-tailed)	0.951	0.102
Mean Difference	0.136567	3.545533

Hasil yang diperoleh dari uji *independent T-test* yaitu pada *levене test* didapat nilai Sig. 0.813 pada inti sel dan Sig. 0.797 pada sitoplasma yang berarti varian data homogen karena bernilai >0.05. dengan *mean difference* pada inti sel yaitu 0.136567 dan 3.545533 pada sitoplasma. Hasil nilai Sig. 0.951 pada inti sel dan 0.102 pada sitoplasma, keduanya bernilai >0.05 maka dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan bermakna untuk hasil nilai kontras warna inti sel dan sitoplasma jaringan apendiks dengan menggunakan *xylo* dan metil ester sulfonat sebagai agen deparafinisasi.

PEMBAHASAN

Deparafinisasi adalah suatu tahap pada proses pewarnaan (staining) dengan tujuan membersihkan parafin dari jaringan atau kaca objek⁹. Proses ini menghilangkan parafin sebelum proses pewarnaan agar penyerapan warna maksimal pada pewarnaan jaringan¹⁰. Sisa parafin yang terdapat pada jaringan akan mempengaruhi hasil dari kualitas warna preparat.

Xylo merupakan senyawa kimia yang sering digunakan sebagai agen deparafinisasi dalam laboratorium patologi. *Xylo* dapat memberi efek transparan pada jaringan¹¹ sehingga preparat yang didapatkan dapat berkualitas baik. Namun *xylo* memiliki efek berbahaya karena bersifat mudah terbakar dan dapat berdampak pada kesehatan manusia jika terpapar dalam jangka Panjang. Berdasarkan efek tersebut maka dilakukan penelitian mengenai bahan yang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti *xylo*.

Metil Ester Sulfonat (MES) adalah salah satu surfaktan anionik berbasis minyak nabati⁵. karakteristik hidrofobik pada surfaktan anionik disebabkan oleh

gugus ionik yang besar berupa gugus sulfonat atau sulfat sehingga metil ester sulfonat ini dapat meluruhkan zat parafin sama seperti *xylo*. Mekanisme kerja surfaktan terhadap parafin yaitu dengan gugus hidrofobik dan hidrofilik yang menyebabkan surfaktan cenderung berada pada antar muka diantara fasa dengan polaritas yang berbeda¹².

Pada penelitian ini, preparat jaringan diberikan dua perlakuan berbeda yaitu 30 preparat menggunakan *xylo* sebagai kontrol dan 30 preparat menggunakan metil ester sulfonat 10% dengan suhu 80°C sebagai perlakuan dalam tahapan deparafinisasi. Suhu 80°C digunakan untuk menurunkan tegangan antar muka pada metil ester sulfonat agar dapat mengikat zat parafin lebih baik. Konsentrasi surfaktan, salinitas, suhu, dan pH diketahui menjadi faktor utama yang mempengaruhi adsorpsi¹³.

Berdasarkan penilaian yang telah dilakukan, Pada pengamatan kualitatif selanjutnya dilakukan penilaian secara kuantitatif. Penilaian menunjukkan bahwa hasil dari kedua perlakuan bernilai baik sesuai dengan hipotesis pada penelitian ini. Namun, pada perlakuan metil ester sulfonat terdapat kualitas preparat yang bernilai 2

yang diamati oleh Praktisi Laboratorium Sitohistoteknologi dan Analisis Laboratorium Patologi Anatomi PT Duta Medika karena hasil keseragaman warna yang kurang baik tetapi preparat masih bisa diamati. Hal ini dapat disebabkan oleh kestabilan suhu yang belum maksimal serta penggunaan suhu yang belum optimal, dilihat dari pengaruh suhu yang dapat mempengaruhi tegangan antar muka pada metil ester sulfonat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa kualitas warna preparat jaringan yang menggunakan *xylo*l dan metil ester sulfonat sebagai agen deparafinisasi memiliki hasil yang baik dilihat dari penilaian kualitatif dengan parameter kejelasan warna biru pada inti, kejelasan warna merah pada sitoplasma, keseragaman warna sel, sehingga dapat diamati dengan baik menggunakan mikroskop. Serta tidak adanya perbedaan signifikan antara penggunaan *xylo*l dan metil ester sulfonat sebagai agen deparafinisasi ditunjukkan dengan hasil uji independent T-Test nilai kontras warna inti sel Sig. 0.951 dan sitoplasma Sig. 0.102. keduanya bernilai >0.05. Berdasarkan hasil penelitian maka, metil ester sulfonat dapat digunakan sebagai alternatif agen deparafinisasi.

DAFTAR RUJUKAN

1. Mescher AL., Junqueira LCU. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*. Mcgraw-Hill Education; 2016.
2. Handoyo E, Wispriyono B. RISIKO KESEHATAN PAJANAN BENZENA, TOLUENA, DAN XYLENA PETUGAS PINTU TOL. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2016;11(1):96-102. doi:10.15294/kemas.v11i1.3521
3. Alwahaibi NY, Aldughaishi SH. A substitute to xylene in deparaffinization and clearing prior to coverslipping in histopathology. *J Lab Physicians*. 2019;11(02):118-122. doi:10.4103/jlp.jlp_169_18
4. PT.SMART-LABINDONESIA. *LEMBAR DATA KESELAMATAN BAHAN Menurut Peraturan (UE) No.1907/2006.*; 2021. www.smartlab.co.id
5. Mansur D, Astrini N, dan Wuryaningsih R TS. *PEMBUATAN METIL ESTER SULFONAT DARI REFINED BLEACHED DEODORIZED STEARIN MINYAK SAWIT MENGGUNAKAN OLEUM*. Vol 8.; 2007.
6. Duma Kalista Wibowo A, Augiselvia N, Muhammad Yusuf R, Sunandar K, Joelianingsih. *KAJIAN PENGARUH KONSENTRASI KATALIS DAN KONSENTRASI METANOL PADA SINTESIS METIL ESTER SULFONAT*. *TECHNOPEX*. Published online 2018.
7. Hidayati S, Sapta Zuidar DA, Yanto DF, et al. *Optimasi MES Dari Minyak Jarak Pagar Sri Hidayati et al OPTIMASI PROSES PEMBUATAN METIL ESTER SULFONAT (MES) DARI MINYAK JARAK PAGAR (Jatropha Curcas L.) DAN PENGARUHNYA TERHADAP NILAI TEGANGAN ANTARMUKA MENGGUNAKAN METODE PERMUKAAN RESPON (Optimization Condition for Methylester Sulphonate (MES) Processing from Jatropha Oil (Jatropha Curcas L.) and Its Effect on the Interfacial Tension by Using Response Surface Methodology)*. Vol 14.; 2009.
8. Geng J, Johnson BFG, Wheatley AEH, Luo JK. Spectroscopic route to monitoring individual surfactant ions and micelles in aqueous solution: A case study. *Central European Journal*

- of Chemistry*. 2014;12(3):307-311.
doi:10.2478/s11532-013-0384-3
9. Puspita Sari D, Fatmawati U, Maya Prabasari R. *Profil Hands On Activity Pada Mata Kuliah Mikroteknik Di Prodi Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Vol 13.; 2016.
 10. Damayanti M, Ariyadi T, Tyas RA. PROSES DEPARAFINASI SEDIAAN JARINGAN GINJAL DENGAN DAN TANPA PEMANASAN MENGGUNAKAN MINERAL OIL PADA PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN. *Jurnal Kesehatan Rajawali*. 2021;11(2).
 11. Kunhua W, Chuming F, Tao L, et al. A novel non-toxic xylene substitute (SBO) for histology. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2012;9(1). doi:10.4314/ajtcam.v9i1.6
 12. Sukeksi L, Sidabutar AJ, Sitorus C. PEMBUATAN SABUN DENGAN MENGGUNAKAN KULIT BUAH KAPUK (*Ceiba Petandra*) SEBAGAI SUMBER ALKALI SOAP MAKING BY USING KAPUK FRUIT PEEL (*Ceiba Petandra*) AS A SOURCE OF ALKALI. Vol 6.; 2017.
 13. Belhaj AF, Elraies KA, Mahmood SM, Zulkifli NN, Akbari S, Hussien OSE. The effect of surfactant concentration, salinity, temperature, and pH on surfactant adsorption for chemical enhanced oil recovery: a review. *J Pet Explor Prod Technol*. 2020;10(1):125-137. doi:10.1007/s13202-019-0685-y
 14. Zhou Y, Wu J, Lemmon EW. Thermodynamic Properties of o-Xylene, m-Xylene, p-Xylene, and Ethylbenzene. *J Phys Chem Ref Data*. 2012;41(2). doi:10.1063/1.3703506
 15. Kandyala R, Raghavendra SP, Rajasekharan S. Xylene: An overview of its health hazards and preventive measures. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2010;14(1):1. doi:10.4103/0973-029x.64299