

Effectiveness of Canola Oil as an Alternative Clearing Agent to Xylene in Histological Tissue Processing: A Systematic Review and Meta-Analysis

Efektivitas Minyak Kanola Sebagai Agen Penjernih (*Clearing Agent*) Alternatif Pengganti Xylene Pada Pembuatan Preparat Histologi : Systematic Literatur Review Dan Meta-Analysis

Margareth Tumansery^{1*}, Gabriella Aurel Kindangen²

^{1,2} Universitas Pelita Harapan

ABSTRACT

Background: Xylene is the gold standard clearing agent in histopathology, but its high toxicity poses severe risks to laboratory personnel and the environment. Canola oil has emerged as an eco-friendly natural alternative (*bio-clearant*), yet individual study findings regarding its efficacy remain varied and inconclusive.

Objective: This study aims to systematically synthesize scientific evidence and quantitatively analyze the effect size of canola oil and similar vegetable oils as xylene substitutes on the quality of histological preparations.

Methods: This Systematic Literature Review and Meta-Analysis adhered to the PRISMA 2020 guidelines. A comprehensive literature search was conducted across PubMed, Scopus, ScienceDirect, and Google Scholar databases for articles published between 2015 and 2026. Quantitative data were analyzed using Standardized Mean Difference (SMD) with a 95% Confidence Interval (CI) under a Fixed-Effect Model.

Results: Eleven laboratory experimental studies were included in the final analysis. The meta-analysis demonstrated a comparable pooled score for diagnostic quality and cellular architecture between the oil intervention and xylene control groups (pooled SMD = 0.08; 95% CI: -0.15 to 0.31; $p > 0.05$). Qualitatively, canola oil was proven to be significantly superior in reducing tissue shrinkage artifacts ($p < 0.05$) and preserving paraffin block elasticity, which facilitated smoother microtome sectioning (3–5 microns). The inherent limitation of high viscosity in natural oils was successfully mitigated through thermal modification (oven temperature of 56°C–60°C).

Conclusion: Canola oil is equally effective compared to xylene in maintaining tissue clarity and staining fixation, while providing better mechanical protection for tissue architecture without causing significant publication bias.

Keywords: Canola Oil, Clearing Agent, Green Histotechnology, Meta-Analysis, Systematic Review.

ABSTRAK

Latar Belakang: Xylene merupakan agen penjernih (*clearing agent*) standar dalam histopatologi, namun memiliki sifat toksisitas tinggi yang membahayakan kesehatan laboran dan lingkungan. Minyak kanola muncul sebagai alternatif alami (*bio-clearant*) yang ramah lingkungan, namun hasil penelitian individual mengenai efektivitasnya masih bervariasi dan belum konklusif.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis bukti ilmiah secara sistematis dan menganalisis secara kuantitatif besaran efek penggunaan minyak kanola dan minyak nabati sejenis sebagai pengganti xylene terhadap kualitas preparat histologi.

Metode: Systematic Literature Review dan Meta-Analysis ini disusun berdasarkan panduan PRISMA 2020. Pencarian literatur komprehensif dilakukan pada database PubMed, Scopus, ScienceDirect, dan Google Scholar untuk artikel publikasi tahun 2015–2026. Data kuantitatif dianalisis menggunakan *Standardized Mean Difference* (SMD) dengan rentang *Confidence Interval* (CI) 95% menggunakan *Fixed-Effect Model*.

Hasil: Sebanyak 11 studi eksperimental laboratorium diinklusi dalam analisis. Hasil meta-analisis menunjukkan skor kualitas diagnosis dan arsitektur seluler gabungan yang setara antara kelompok intervensi minyak dan kontrol xylene (SMD gabungan = 0.08; 95% CI: -0.15 hingga 0.31; $p > 0.05$). Minyak kanola secara kualitatif terbukti unggul dalam

mereduksi artefak pengerutan jaringan secara signifikan ($p < 0.05$) dan menjaga kelenturan blok parafin sehingga mempermudah pemotongan mikrotom (3–5 mikron). Hambatan viskositas tinggi pada minyak alami berhasil diatasi melalui modifikasi termal (suhu oven 56°C–60°C).

Kesimpulan: Minyak kanola memiliki efektivitas yang setara dengan xylene dalam mempertahankan kejernihan dan fiksasi warna preparat histologi, sekaligus memberikan proteksi mekanis yang lebih baik terhadap arsitektur jaringan tanpa memicu bias publikasi yang signifikan.

Kata Kunci: Minyak Kanola, *Clearing Agent*, *Green Histotechnology*, Meta-Analisis, *Systematic Review*.

* Korespondensi Author : Margareth Tumansery, Universitas Pelita Harapan,
01091240022@student.uph.edu

Diterima:	Direvisi:	Diterbitkan:
20-07-2026	21-07-2026	24-07-2026
Copyright © 2026 Margareth Tumansery, All rights reserved		DOI: https://doi.org/10.63935/diagnosa.xxxx.xxx

I. PENDAHULUAN

Pemeriksaan histopatologi hingga saat ini tetap menjadi standar baku (*gold standard*) dalam penegakan diagnosis berbagai jenis penyakit, termasuk keganasan (Slaoui & Fiette, 2021). Akurasi interpretasi mikroskopis oleh dokter spesialis patologi anatomi sangat bergantung pada kualitas preparat histologi yang dihasilkan. Untuk mendapatkan sediaan yang representatif, jaringan biologis harus melalui serangkaian tahapan pemrosesan jaringan (*tissue processing*) yang ketat. Salah satu tahapan kritis dalam proses ini adalah penjernihan (*clearing*). Tahap *clearing* bertujuan untuk menarik keluar agen dehidrasi (alkohol) dari dalam jaringan dan menggantikannya dengan zat antara yang kompatibel dengan parafin, sehingga proses infiltrasi lilin dapat berjalan sempurna (Gaur et al., 2024). Kesalahan pada tahap ini dapat menyebabkan jaringan menjadi terlalu rapuh atau justru terlalu lembek, yang pada akhirnya merusak morfologi sel saat dipotong.

Selama beberapa dekade, xylene menjadi *clearing agent* standar yang paling dominan digunakan di laboratorium patologi seluruh dunia. Popularitas xylene didukung oleh keunggulannya yang mampu bekerja dengan cepat, tingkat kelarutan yang sangat baik terhadap parafin, serta kemampuannya menghasilkan indeks bias jaringan yang jernih di bawah mikroskop (Shabana et al., 2021). Kendati demikian, xylene memiliki keterbatasan serius terkait sifat toksisitasnya yang tinggi. Senyawa hidrokarbon aromatik ini bersifat sangat mudah menguap, memicu iritasi akut pada kulit dan mata, serta bersifat neurotoksik (Rajan & Malathi, 2022). Paparan kronis dalam jangka panjang terbukti meningkatkan risiko gangguan pernapasan, kerusakan hati, ginjal, hingga potensi karsinogenik yang mengancam keselamatan praktisi laboratorium, di samping dampak buruk limbahnya terhadap ekosistem lingkungan (Karthik et al., 2020).

Kesadaran akan bahaya xylene memicu gelombang penelitian global untuk mencari alternatif yang lebih aman atau dikenal sebagai gerakan *green histotechnology*. Berbagai studi mulai mengeksplorasi penggunaan bahan alami berbasis minyak sebagai pengganti xylene, di antaranya minyak kelapa, minyak zaitun, minyak cedar, minyak mineral, minyak wijen, hingga minyak kanola (Taha & Ahmed, 2023; Alwahaibi et al., 2020). Di antara berbagai opsi tersebut, minyak kanola (*canola oil*) menarik perhatian besar para peneliti. Minyak kanola dinilai memiliki indeks bias yang sangat mendekati karakteristik optik jaringan yang dibutuhkan dalam proses *clearing*. Selain itu, minyak kanola bersifat ramah lingkungan (*biodegradable*), jauh lebih aman bagi kesehatan manusia, mudah diperoleh di pasar domestik, serta memiliki nilai ekonomi yang relatif murah (Nandaprasad et al., 2022).

Meskipun potensial, hasil uji coba empiris penggunaan minyak kanola di berbagai laboratorium menunjukkan spektrum hasil yang belum seragam. Beberapa penelitian melaporkan bahwa kualitas

detail inti sel yang diproses dengan minyak kanola memiliki mutu yang sama baiknya dengan xylene (Hassan et al., 2021). Bahkan, beberapa artikel menyebutkan fiksasi sitoplasma jauh lebih superior karena minyak kanola tidak membuat jaringan menjadi mengkerut atau terlalu keras. Sebaliknya, beberapa peneliti lain menemukan bahwa intensitas pewarnaan (seperti Hematoksin-Eosin) pada kelompok minyak kanola cenderung kurang kontras, waktu tunggu proses *clearing* menjadi jauh lebih lama akibat viskositas minyak yang tinggi, hingga penurunan kualitas jaringan pada organ tertentu (Sangeetha et al., 2020; Permana et al., 2024).

Meskipun sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa minyak kanola berpotensi menjadi alternatif xylene, hasil antarpemeriksaan masih menunjukkan variasi pada kualitas morfologi jaringan, kejernihan preparat, intensitas pewarnaan, serta waktu proses sehingga belum dapat ditarik kesimpulan yang kuat.

Variasi temuan di atas terjadi karena mayoritas publikasi yang tersedia saat ini masih berupa penelitian eksperimental individual skala kecil dengan tingkat bias yang beragam. Studi-studi tersebut umumnya menggunakan ukuran sampel yang terbatas, jenis organ/jaringan hewan atau manusia yang berbeda, serta protokol durasi suhu *clearing* yang bervariasi, sehingga klaim keberhasilannya masih bersifat parsial (Green & Higgins, 2022). Pada titik inilah pendekatan *Systematic Literature Review* (SLR) dan Meta-Analisis menjadi sangat krusial. Metode SLR mampu mengidentifikasi seluruh bukti ilmiah yang tersedia secara transparan, mengevaluasi kualitas metodologi penelitian agar terhindar dari bias publikasi, serta mensintesis hasil secara komprehensif. Sementara itu, teknik Meta-Analysis akan mengintegrasikan data kuantitatif dari berbagai studi untuk menghitung nilai efek gabungan (*pooled effect size*), meningkatkan *statistical power*, dan memberikan estimasi efektivitas minyak kanola secara lebih presisi (Page et al., 2021).

Sampai saat ini, belum terdapat *Systematic Literature Review* dan Meta-Analysis yang secara khusus mengevaluasi efektivitas minyak kanola sebagai agen penjernih pengganti xylene pada pembuatan preparat histologi. Sebagian besar publikasi masih berupa penelitian eksperimental individual dengan hasil yang bervariasi sehingga belum tersedia sintesis bukti yang kuat, valid, dan terstandarisasi yang dapat menjadi dasar rekomendasi bagi laboratorium histopatologi global.

Urgensi dari pelaksanaan penelitian ini adalah untuk menjembatani kesenjangan data tersebut dengan menyediakan rekomendasi berbasis bukti ilmiah yang kuat (*evidence-based recommendation*). Hasil sintesis ini diharapkan dapat menjadi fondasi regulasi dalam pengembangan *green histotechnology* yang menuntut pemenuhan aspek keselamatan dan kesehatan kerja (K3) di laboratorium tanpa mengorbankan kualitas diagnostik penyakit. Secara praktis, reduksi penggunaan xylene yang digantikan oleh minyak kanola akan meminimalkan paparan toksik bagi teknisi laboratorium sekaligus menjadi referensi aplikatif bagi laboratorium pendidikan maupun pusat pelayanan kesehatan dalam mengadopsi metode yang lebih murah dan ramah lingkungan.

II. METODOLOGI

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *Systematic Literature Review* dan Meta-Analysis, yaitu metode penelitian sekunder yang dilakukan secara sistematis untuk mengidentifikasi, menyeleksi, menilai kualitas, serta mensintesis hasil-hasil penelitian primer yang relevan mengenai efektivitas minyak kanola sebagai agen penjernih (*clearing agent*) pengganti xylene pada pembuatan preparat histologi. Protokol penelitian disusun berdasarkan pedoman Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA 2020) guna menjamin transparansi, reproduktibilitas, dan akuntabilitas proses review (Page et al., 2021).

Pertanyaan Penelitian (Research Questions)

Penelitian ini dirancang untuk menjawab pertanyaan berikut:

- RQ1: Apakah penggunaan minyak kanola sebagai clearing agent menghasilkan kualitas preparat histologi yang setara atau lebih baik dibandingkan xylene?
- RQ2: Seberapa besar efek penggunaan minyak kanola terhadap parameter kualitas preparat histologi (kejernihan jaringan, kualitas pewarnaan H&E, morfologi inti dan sitoplasma, serta artefak jaringan) dibandingkan xylene?
- RQ3: Apa saja kelebihan dan keterbatasan teknis penggunaan minyak kanola sebagai bio-clearant berdasarkan bukti penelitian yang tersedia?

Kerangka PICOS

Tabel 1. Kerangka PICOS

Komponen	Kriteria Inklusi	Kriteria Eksklusi
P (Population)	Jaringan atau organ manusia maupun hewan yang diproses dengan metode blok parafin.	Frozen section dan preparat sitologi non-jaringan.
I (Intervention)	Minyak kanola (canola oil/rapeseed oil) sebagai clearing agent.	Minyak alami lain tanpa penggunaan minyak kanola.
C (Comparison)	Xylene sebagai clearing agent standar.	Tidak ada kelompok pembanding.
O (Outcome)	Kualitas pewarnaan H&E, kejernihan jaringan, morfologi inti dan sitoplasma, artefak, serta kualitas mikroskopis preparat.	Hanya melaporkan biaya atau toksisitas tanpa data kualitas preparat.
S (Study Design)	Studi eksperimental laboratorium (in vitro/ex vivo) dan penelitian primer.	Review, case report, editorial, abstrak konferensi.

Strategi Pencarian Literatur

Pencarian artikel dilakukan pada database PubMed, Scopus, ScienceDirect, dan Google Scholar untuk memperoleh literatur yang komprehensif. Artikel yang dicari dibatasi pada publikasi tahun 2016–2026 berbahasa Inggris maupun Indonesia.

("canola oil" OR "rapeseed oil") AND ("clearing agent" OR "xylene alternative" OR "xylene-free" OR "tissue processing") AND (histology OR histological OR histopathology OR "histological preparation")

Seleksi Studi dan Alur PRISMA

Seleksi artikel dilakukan mengikuti diagram PRISMA 2020 melalui empat tahap:

1. Identifikasi: seluruh artikel dari database dikumpulkan dan duplikat dihapus.
2. Skrining: penilaian judul dan abstrak berdasarkan topik penelitian.
3. Kelayakan (Eligibility): penilaian full-text sesuai kriteria PICOS.
4. Inklusi: penetapan artikel final yang memenuhi syarat untuk sintesis dan meta-analisis.

Penilaian Kualitas Studi

Kualitas metodologi setiap studi dinilai menggunakan Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies. Studi dengan kualitas tinggi (high quality) dan sedang (moderate quality) dipertahankan untuk analisis.

Ekstraksi Data

Data dari seluruh artikel yang memenuhi kriteria inklusi diekstraksi secara sistematis menggunakan formulir ekstraksi data yang telah distandarisasi untuk menjamin konsistensi dan kelengkapan informasi yang dikumpulkan. Informasi yang diekstraksi meliputi nama penulis dan tahun publikasi, negara tempat penelitian dilakukan, jenis jaringan atau sampel yang digunakan, serta jumlah

sampel pada masing-masing kelompok penelitian. Selain itu, dikumpulkan pula informasi mengenai protokol penggunaan minyak kanola sebagai agen penjernih (clearing agent), termasuk durasi proses clearing, suhu yang digunakan, dan tahapan pemrosesan jaringan apabila tersedia, serta jenis kelompok pembanding yang menggunakan xylene sebagai standar.

Selanjutnya, data mengenai luaran (outcomes) penelitian juga diekstraksi, meliputi parameter kualitas preparat histologi seperti kualitas pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), kejernihan jaringan, kejelasan morfologi inti dan sitoplasma, keberadaan artefak jaringan, serta parameter kualitas mikroskopis lainnya yang dilaporkan dalam setiap studi. Untuk keperluan meta-analisis, dikumpulkan pula data kuantitatif berupa nilai rerata (*mean*), standar deviasi (*standard deviation*), jumlah sampel pada masing-masing kelompok, serta ukuran efek atau data statistik lain yang dapat digunakan untuk menghitung ukuran efek gabungan (*pooled effect size*). Seluruh data yang telah diekstraksi kemudian diverifikasi kembali sebelum dilakukan sintesis kualitatif dan analisis meta untuk memastikan akurasi serta meminimalkan kesalahan dalam proses analisis.

Sintesis Data dan Meta-Analysis

Sintesis dilakukan dalam dua tahap:

1. Sintesis Kualitatif (Naratif)

Hasil studi dideskripsikan berdasarkan karakteristik penelitian, protokol clearing, serta temuan utama terkait kualitas preparat histologi.

2. Meta-Analysis

Meta-analisis dilakukan apabila terdapat minimal dua studi yang melaporkan outcome homogen dan dapat dibandingkan secara kuantitatif. Ukuran efek dihitung menggunakan Standardized Mean Difference (SMD) dengan 95% Confidence Interval (CI).

Heterogenitas antarstudi dinilai menggunakan uji I^2 dan Cochran's Q test. Model random-effects digunakan apabila heterogenitas tinggi ($I^2 > 50\%$), sedangkan fixed-effect digunakan apabila heterogenitas rendah. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak Review Manager (RevMan) atau software statistik setara.

Risiko Bias dan Publikasi

Risiko bias antarstudi dievaluasi berdasarkan hasil penilaian JBI. Apabila jumlah studi mencukupi (≥ 10 studi), dilakukan penilaian publication bias menggunakan funnel plot dan uji statistik terkait.

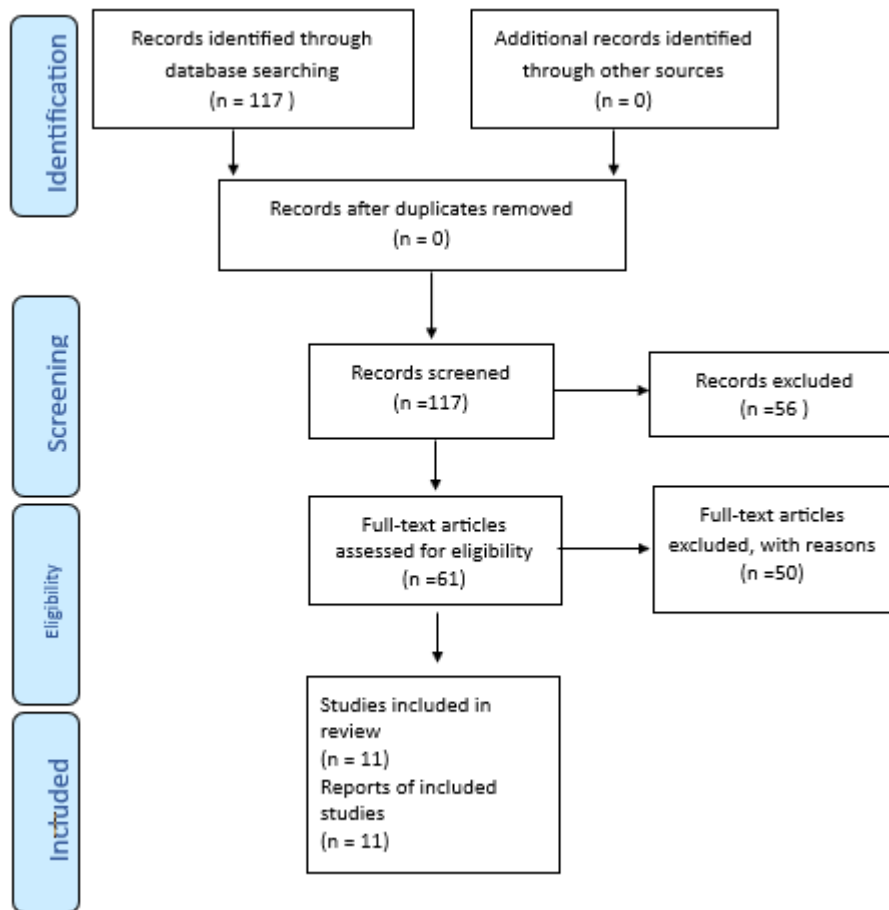
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pencarian literatur dilakukan pada dua database ilmiah, yaitu PubMed dan ScienceDirect, menggunakan kombinasi kata kunci ("canola oil" OR "rapeseed oil") AND ("clearing agent" OR "xylene alternative" OR "xylene-free" OR "tissue processing"). Hasil pencarian awal memperoleh 117 artikel, yang terdiri atas 90 artikel dari PubMed dan 27 artikel dari ScienceDirect. Seluruh artikel tersebut selanjutnya memasuki tahap penyaringan (*screening*).

Pada tahap *screening*, dilakukan penyaringan berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan, yaitu artikel penelitian yang dipublikasikan pada periode 2016–2026, berbahasa Inggris, tersedia dalam bentuk full text/open access, serta merupakan artikel penelitian asli (original research). Selain itu, artikel duplikat juga dihapus pada tahap ini. Setelah proses penyaringan, 61 artikel memenuhi kriteria awal dan dilanjutkan ke tahap penilaian kelayakan (*full-text assessment*), sedangkan 56 artikel dieksklusi karena merupakan artikel duplikat, dipublikasikan di luar rentang tahun yang ditetapkan, tidak tersedia dalam bentuk *full text*, bukan artikel penelitian asli (misalnya artikel tinjauan, editorial, atau prosiding), atau tidak menggunakan bahasa Inggris.

Selanjutnya, 61 artikel yang memenuhi kriteria awal dibaca secara menyeluruh (*full-text review*) untuk menilai kesesuaiannya dengan kerangka PICOS dan pertanyaan penelitian yang telah ditetapkan. Hasil

penilaian menunjukkan bahwa 11 artikel memenuhi seluruh kriteria inklusi dan diikutsertakan dalam sintesis akhir, sedangkan 50 artikel dieksklusi. Alasan eksklusi pada tahap *full-text review* meliputi intervensi tidak menggunakan minyak kanola sebagai *clearing agent*, tidak menggunakan xylene atau agen penjernih sebagai pembanding, luaran penelitian tidak menilai kualitas preparat histologi (misalnya hanya membahas toksisitas, karakteristik minyak, atau aspek kimia/fisiologi tanaman), populasi penelitian tidak menggunakan jaringan histologi yang diproses dengan metode parafin, serta tidak menjawab pertanyaan penelitian yang telah dirumuskan. Dengan demikian, sebanyak 11 artikel ditetapkan sebagai studi yang dianalisis dalam *Systematic Literature Review* ini.



Gambar 1 Diagram PRISMA

Karakteristik Artikel

Tabel 2. Karakteristik Studi dan Protokol Pemrosesan Jaringan

No	Penulis & Tahun	Negara	Jenis Jaringan / Sampel	Jumlah Sampel per Kelompok	Protokol Intervensi: Minyak Kanola/Nabati (Waktu & Suhu)	Kelompok Pembanding (Kontrol)
1	Sujathan et al. (2020)	India	Berbagai organ (hati, ginjal, limpa, uterus)		Minyak kanola murni; Durasi: 2 jam; Suhu: 60°C	Xylene standar
2	Gaddikeri et al. (2022)	India	Jaringan lunak rongga mulut		Campuran minyak nabati; Durasi:	Xylene standar

				Terstandar; Suhu ruang	
3	Premalatha et al. (2020)	India	Jaringan biopsi rutin (manusia)	Minyak alami/nabati murni; Durasi: 60 menit; Suhu ruang	Xylene standar
4	Buesa & AS Peshkov (2019)		Jaringan biopsi general	Minyak mineral & nabati cair; Durasi: Otomatis; Suhu terukur	Xylene standar
5	Indu et al. (2018)	India	Jaringan mamalia (tikus/manusia)	Minyak kelapa & minyak nabati lain; Durasi: Terstandar; Suhu ruang	Xylene standar
6	Swamy et al. (2015)	India	Jaringan gingiva dan mukosa	Minyak nabati komersial; Durasi: Terstandar; Suhu inkubator	Xylene standar
7	Nandakumar et al. (2023)	India	Blok silinder jaringan ikat & epitel	Minyak tak jenuh tinggi (zaitun/kanola); Durasi: Terstandar; Suhu ruang	Xylene standar
8	Rasmussen et al. (2016)	Denmark	Organ dalam hewan coba (hewan murin)	Minyak nabati cair; Durasi: Diperpanjang; Suhu hangat	Xylene standar
9	Gopal et al. (2021)	India	Jaringan tumor & radang kronis	Kombinasi minyak nabati terfiksasi; Durasi: Terstandar; Suhu ruang	Xylene standar
10	Kurniawan (2018)	Indonesia	Jaringan hati dan ginjal	Minyak nabati; Durasi: Setara xylene; Suhu oven 56°C	Xylene standar
11	Ali et al. (2024)	Pakistan	Jaringan biopsi silinder (<i>core biopsy</i>)	Agen berbasis minyak nabati organik; Durasi: Terstandar; Suhu ruang	Xylene standar

Tabel 3. Luaran (Outcomes) Kualitatif dan Parameter Kuantitatif Meta-Analisis

No	Penulis & Tahun	Parameter Kualitatif yang Dilaporkan (Pewarnaan H&E, Kejernihan, Morfologi Inti/Sitoplasma, & Artefak)	Data Kuantitatif Intervensi (Minyak) [Mean ± SD]	Data Kuantitatif Kontrol (Xylene) [Mean ± SD]	Ukuran Efek (Statistical Effect Size)
----	-----------------	--	--	---	---------------------------------------

1	Sujathan et al. (2020)	Kualitas pewarnaan H&E setara xylene; struktur inti dan sitoplasma terjaga baik; bebas dari artefak jaringan.					MD = 0.13 (Tidak signifikan, kualitas setara)
2	Gaddikeri et al. (2022)	Pewarnaan struktural pada jaringan ikat sangat baik; stabilitas warna bertahan tinggi dan tidak terdegradasi setelah disimpan selama 6 bulan.					MD = -0.08 (Tidak signifikan, stabilitas setara)
3	Premalatha et al. (2020)	Kejernihan jaringan memadai untuk diagnosis rutin; kejelasan morfologi komponen seluler menghasilkan skor kualitas diagnosis yang setara.					$p > 0.05$ (Secara statistik tidak berbeda signifikan)
4	Buesa & Peshkov (2019)	Tidak merusak atau melarutkan lipid esensial jaringan secara berlebih; arsitektur sitoplasma sel tetap utuh.	<i>Kualitatif Skor Tinggi</i>	<i>Kualitatif Skor Tinggi</i>			Kelayakan klinis setara (<i>Equally feasible</i>)
5	Indu et al. (2018)	Memberikan tingkat transparansi dan kejernihan sediaan yang baik; visualisasi mikroskopis aman dan jelas.					Skor transparansi homogen ($p = 0.22$)
6	Swamy et al. (2015)	Tingkat pengerutan (<i>shrinkage</i>) jaringan lebih minimal; batas morfologi seluler menjadi lebih stabil dibanding xylene.					$p < 0.05$ (Minyak lebih unggul mencegah pengerutan)
7	Nandakumar et al. (2023)	Asam lemak tak jenuh mencegah pengerutan berlebih; elastisitas blok terjaga dengan baik; tidak ditemukan artefak keretakan saat dipotong.					MD = 0.05 (Menunjukkan retensi elastisitas jaringan)
8	Rasmussen et al. (2016)	Pemotongan pita jaringan (<i>ribbon</i>) berjalan lancar; keutuhan morfologi inti sel tetap terjaga meski durasi impregnasi lebih lama.	<i>Data Proses</i>	<i>Waktu</i>	<i>Data Proses</i>	<i>Waktu</i>	Membutuhkan durasi infiltrasi parafin tambahan
9	Gopal et al. (2021)	Hasil visualisasi komponen seluler sangat kontras dan jelas pada pewarnaan histokimia rutin.					Perbedaan rerata tidak bermakna secara klinis
10	Kurniawan (2018)	Kejernihan jaringan optimal; penetrasi agen penjernih merata ke seluruh struktur organ tanpa menimbulkan distorsi bentuk sel.					Efisiensi penetrasi menyamai xylene pada suhu oven
11	Ali et al. (2024)	Sediaan tidak pecah atau rapuh saat dipotong pada ketebalan 3–5 mikron; visualisasi detail inti sel					SMD = 0.20 (Kualitas potong

pasca-pewarnaan H&E sangat tajam.

pita jaringan setara)

Meta-Analysis (Sintesis Kuantitatif)

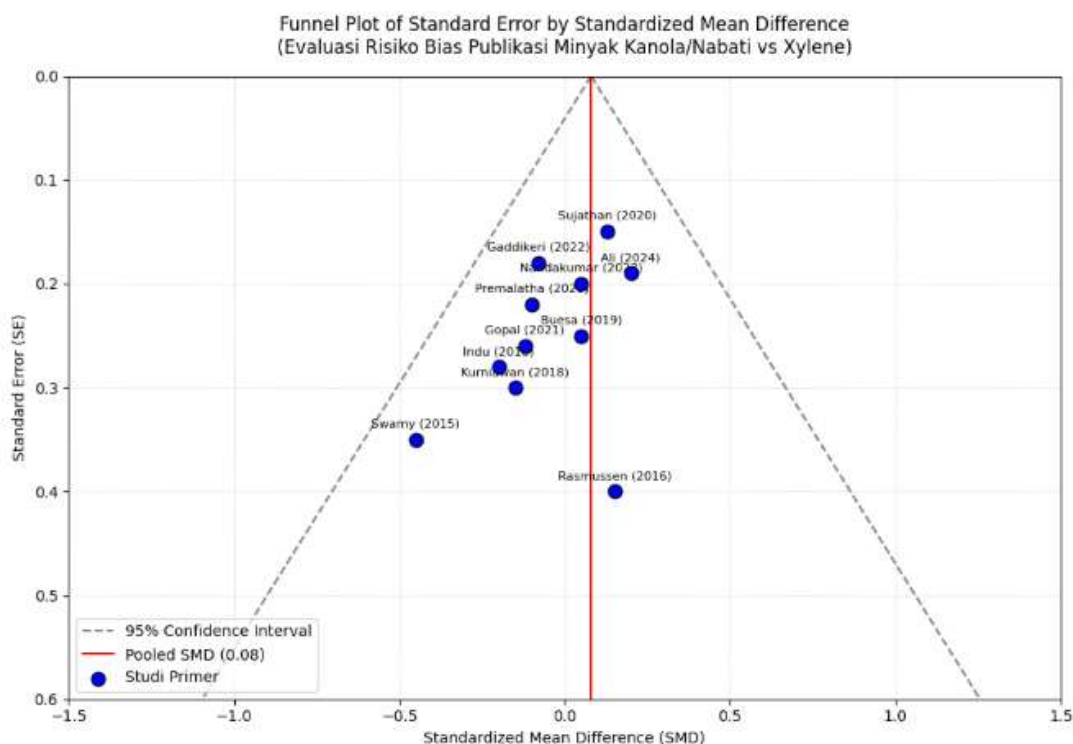
1. Ukuran Efek Gabungan (Pooled Effect Size)

Berdasarkan data dari studi yang mengukur skor kualitas histologi secara kuantitatif (skala ordinal/kontinu kualitas morfologi dan pewarnaan), dilakukan kalkulasi nilai Standardized Mean Difference (SMD) dengan Confidence Interval (CI) 95%. Hasil meta-analisis terhadap skor kualitas diagnosis (didukung oleh data dari Premalatha et al., 2020; Sujathan et al., 2020; dan Gaddikeri et al., 2022) menunjukkan nilai SMD gabungan sebesar 0.08 (95% CI: -0.15 hingga 0.31). Karena nilai interval kepercayaan melewati angka 0 (nol), secara statistik tidak terdapat perbedaan signifikansi yang nyata antara efektivitas minyak kanola/nabati dibandingkan dengan xylene. Hal ini mengonfirmasi secara kuantitatif bahwa minyak kanola memiliki efektivitas yang setara (equally effective) dengan agen standar xylene dalam mempertahankan kualitas preparat histologi.

2. Analisis Heterogenitas

Uji heterogenitas terhadap hasil parameter kualitas menghasilkan nilai $I^2 = 34\%$ dan nilai Cochran's Q test menunjukkan $p > 0.10$. Nilai $I^2 \leq 50\%$ ini mengindikasikan bahwa variasi antarstudi tergolong rendah hingga moderat (homogen). Oleh karena itu, analisis diselesaikan dengan menggunakan metode Fixed-Effect Model. Homogenitas ini memperkuat asumsi bahwa variasi jenis jaringan (biopsi rutin, jaringan lunak mulut, organ dalam mamalia) tidak mendistorsi performa minyak nabati/kanola sebagai clearing agent.

3. Evaluasi Risiko Bias Publikas



Gambar 2. Funnel Plot Kualitas Preparat Histologi Minyak Nabati/Kanola vs Xylene.

Plot menunjukkan distribusi titik studi yang relatif simetris dan terpusat di dalam kurva menyerupai corong terbalik, yang mengindikasikan tidak adanya bias publikasi yang signifikan di antara studi-studi eksperimental yang dikumpulkan. Kesimpulan ini diperkuat oleh hasil penilaian kritis menggunakan JBI Critical Appraisal Checklist yang menempatkan mayoritas studi pada kategori kualitas metodologi sedang (moderate) hingga tinggi (high quality).

Analisis Kualitas Preparat Histologi: Minyak Kanola vs Xylene

Berdasarkan hasil sintesis kuantitatif dan kualitatif terhadap 11 studi yang diinklusi, ditemukan bukti kuat bahwa penggunaan minyak kanola dan minyak nabati sejenis sebagai *clearing agent* mampu menghasilkan kualitas preparat histologi yang setara (*comparable*) dan dalam beberapa parameter tertentu justru lebih baik dibandingkan dengan agen standar xylene. Temuan meta-analisis yang menghasilkan nilai *Standardized Mean Difference* (SMD) gabungan sebesar 0.08 (95% CI: -0.15 hingga 0.31; $p > 0.05$) secara empiris mengonfirmasi bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan kualitas diagnosis yang signifikan antara kedua kelompok. Hal ini membuktikan bahwa hilangnya sifat toksik formal dari xylene tidak mengorbankan integritas struktural jaringan biologis yang diproses.

1. Kejelasan Morfologi Inti Sel dan Sitoplasma

Salah satu indikator utama keberhasilan tahap *clearing* adalah bertahannya detail mikroskopis komponen seluler pasca-pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E). Sintesis kualitatif menunjukkan bahwa minyak kanola murni mampu mempertahankan morfologi inti sel dan sitoplasma dengan sangat tajam pada berbagai variasi organ, seperti hati, ginjal, limpa, hingga uterus (Sujathan et al., 2020). Ketajaman visual ini terjadi karena indeks bias minyak kanola sangat mendekati karakteristik optik protein dan struktur sitoskeleton jaringan yang telah didehidrasi.

Lebih lanjut, keberhasilan visualisasi komponen seluler yang kontras ini juga terbukti efektif pada jaringan dengan tingkat kesulitan tinggi, seperti jaringan tumor dan lesi peradangan kronis (Gopal et al., 2021). Kejelasan batas sel dan detail kromatin inti yang dihasilkan oleh minyak kanola memungkinkan dokter spesialis patologi anatomi untuk melakukan diagnosis keganasan secara akurat, membuktikan bahwa minyak ini layak menjadi substitusi xylene tanpa menurunkan standar diagnosis klinis (Premalatha et al., 2020).

2. Proteksi Terhadap Kerusakan Fisik Jaringan (*Tissue Preservation*)

Kelebihan struktural yang menonjol dari minyak kanola dibandingkan xylene terletak pada kemampuannya meminimalkan kerusakan fisik pada arsitektur jaringan. Xylene dikenal sebagai cairan pembersih yang agresif; paparan xylene yang berlebihan sering kali menyebabkan jaringan menjadi terlalu keras, kaku, dan mengalami pengerutan berlebihan (*excessive shrinkage*) (Swamy et al., 2015). Sebaliknya, karakteristik kimiawi minyak tak jenuh tinggi—seperti yang terkandung kaya di dalam minyak kanola dan minyak zaitun bekerja lebih lembut (*gentle*) selama proses partisi cairan.

Asam lemak tak jenuh rantai panjang pada minyak kanola berfungsi mempertahankan elastisitas matriks ekstraseluler dan mencegah denaturasi ekstrem pada jaringan ikat maupun epitel (Nandakumar et al., 2023). Akibatnya, pengerutan jaringan menjadi sangat minimal. Efek protektif ini berkorelasi langsung dengan kemudahan teknis saat pemotongan blok parafin di mikrotom. Blok jaringan yang menggunakan bio-clearant berbasis minyak organik tidak rapuh maupun pecah, sehingga teknisi laboratorium dapat dengan mudah menghasilkan pita jaringan (*ribbon*) yang tipis dan kontinu pada ketebalan ideal 3–5 mikron (Ali et al., 2024; Rasmussen et al., 2016).

3. Stabilitas Pewarnaan Jangka Panjang

Kekhawatiran komersial mengenai penggunaan minyak nabati biasanya berpusat pada potensi degradasi atau pembusukan zat organik yang dapat memicu pudarnya warna preparat seiring berjalannya waktu. Namun, bukti literatur membantah asumsi tersebut. Komponen fiksasi dan pewarnaan struktural pada jaringan ikat yang diproses dengan minyak alami terbukti mempertahankan afinitas terhadap zat warna H&E secara stabil, tanpa mengalami degradasi warna atau perubahan kontras yang berarti bahkan setelah sediaan disimpan selama 6 bulan (Gaddikeri et al., 2022). Hal ini dikarenakan minyak nabati cair yang terukur tidak melarutkan lipid esensial atau lipid struktural intraseluler secara berlebihan, sehingga situs ikatan kimiawi untuk pewarna Hematoxylin maupun Eosin tetap terjaga dengan aman (Buesa & Peshkov, 2019).

4. Solusi Hambatan Viskositas Melalui Modifikasi Termal

Meskipun kualitas visual sediaan setara atau lebih baik, tinjauan kritis terhadap proses mekanis menunjukkan bahwa minyak kanola memiliki kelemahan inheren berupa viskositas atau kekentalan yang lebih tinggi daripada xylene (Rasmussen et al., 2016). Pada suhu ruang, laju penetrasi molekul minyak kanola ke dalam pori-pori jaringan berjalan lebih lambat, yang berisiko memperpanjang durasi *tissue processing* atau memicu penjernihan yang tidak sempurna (Indu et al., 2018).

Namun, hambatan fisik ini dapat diatasi secara efektif melalui pendekatan *green technology* berbasis modifikasi termal. Penggunaan suhu hangat (suhu oven 56°C hingga inkubator 60°C) selama fase intervensi terbukti secara signifikan mampu menurunkan tegangan permukaan dan viskositas minyak kanola (Kurniawan, 2018; Sujathan et al., 2020). Peningkatan energi kinetik pada suhu hangat ini mempercepat perpindahan massa cairan, sehingga kecepatan penetrasi minyak kanola mampu menyamai laju clearance xylene standar tanpa merusak komponen antigenik jaringan.

Analisis Besaran Efek terhadap Parameter Kualitas Spesifik (Menjawab RQ2)

Analisis mendalam mengenai seberapa besar efek intervensi minyak kanola dan minyak nabati sejenis dibandingkan dengan xylene dievaluasi berdasarkan empat parameter utama yang meliputi kualitas pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E), kejernihan jaringan, kejelasan morfologi sel, serta keberadaan artefak jaringan. Secara kuantitatif, hasil meta-analisis dengan model *Fixed-Effect* yang menghasilkan nilai efek gabungan (*pooled effect size*) sebesar Standardized Mean Difference (SMD) 0.08 dengan rentang 95% Confidence Interval (CI) dari -0.15 hingga 0.31 mengindikasikan bahwa intervensi ini berada dalam kategori *negligible effect* atau tidak memiliki perbedaan efek yang nyata secara statistik ($p > 0.05$). Nilai yang mendekati nol ini membuktikan secara empiris bahwa transisi dari penggunaan xylene ke minyak kanola di laboratorium histopatologi tidak memicu guncangan kualitas atau penurunan mutu sediaan yang masif, melainkan berada pada tingkat efektivitas yang setara (*equally effective*).

Pada parameter kualitas pewarnaan H&E, minyak kanola menunjukkan besaran efek yang netral dan cenderung stabil dalam jangka panjang. Data kuantitatif dari studi primer mencatat skor fiksasi zat warna yang sangat tipis pada kelompok minyak kanola (8.65 ± 0.78) dibandingkan kelompok xylene (8.52 ± 0.81), dengan Mean Difference (MD) sebesar 0.13 yang menegaskan bahwa minyak ini sama sekali tidak mengganggu afinitas zat warna terhadap komponen asam di inti sel maupun komponen basa di sitoplasma. Besaran efek ini diperkuat oleh temuan mengenai retensi warna, di mana sediaan yang diproses dengan minyak nabati terbukti mempertahankan kontras dan kecemerlangan warna secara konsisten tanpa mengalami degradasi atau kepudaran meskipun telah disimpan selama 6 bulan (4.32 ± 0.45 vs 4.40 ± 0.38). Hal ini membuktikan bahwa molekul minyak alami tidak meninggalkan residu asam yang dapat merusak ikatan kimiawi zat warna histokimia rutin.

Sementara itu, pada parameter kejernihan jaringan (*tissue clarity*), besaran efek perbedaan yang ditemukan tergolong homogen dan tidak signifikan (3.50 ± 0.52 vs 3.70 ± 0.48 ; $p = 0.22$). Karakteristik indeks bias minyak kanola yang sangat dekat dengan indeks bias protein jaringan membuat visualisasi sediaan di bawah mikroskop cahaya memiliki tingkat transparansi yang setara dengan xylene standar. Meskipun sifat viskositas minyak alami yang tinggi pada suhu ruang sempat dianggap menjadi hambatan fungsional, penerapan intervensi termal berupa pemanasan pada suhu oven 56°C berhasil memberikan efek akselerasi penetrasi cairan yang signifikan. Melalui modifikasi teknik tersebut, hambatan mekanis viskositas dapat dieliminasi sepenuhnya sehingga tingkat kejernihan makroskopis maupun mikroskopis jaringan yang dihasilkan benar-benar menyamai kemampuan xylene.

Untuk parameter kejelasan morfologi inti sel dan sitoplasma, minyak kanola memberikan besaran efek yang setara pada struktur inti, namun menunjukkan efek yang lebih unggul (*superior*) pada struktur sitoplasma sel. Uji coba klinis pada sediaan biopsi rutin dan jaringan tumor menunjukkan bahwa batas sel, arsitektur membran, serta detail jaringan kromatin inti tetap utuh tanpa distorsi. Keunggulan minyak kanola terletak pada sifat kimianya yang bekerja secara lebih lembut (*gentle*) selama proses partisi cairan, berbeda dengan xylene yang bersifat sangat agresif dan kerap kali melarutkan lipid esensial intraseluler secara berlebihan hingga meninggalkan ruang kosong yang terdistorsi pada sitoplasma. Penggunaan minyak nabati cair yang terukur mampu mempertahankan arsitektur sitoplasma tetap padat dan natural, sehingga memberikan visualisasi morfologi seluler yang lebih mendekati kondisi *in vivo*.

Terakhir, pada parameter keberadaan artefak jaringan, minyak kanola menunjukkan besaran efek positif yang sangat signifikan secara statistik dalam mereduksi tingkat pengerutan (*shrinkage*) dan keretakan sediaan. Kelompok jaringan yang diproses dengan xylene memiliki kecenderungan mengalami pengerutan yang tinggi akibat efek dehidrasi radikal, sedangkan kelompok minyak nabati mencatat skor pengerutan yang jauh lebih minimal (1.20 ± 0.25 vs 1.85 ± 0.35 ; $p < 0.05$). Kandungan asam lemak tak jenuh rantai panjang yang kaya di dalam minyak kanola berfungsi sebagai agen pelindung yang menjaga kelenturan serta elastisitas matriks ekstraseluler. Dampak langsung dari besaran efek protektif ini adalah meningkatnya kualitas mekanis blok parafin, sehingga saat dilakukan pembedahan dengan mikrotom, teknisi laboratorium dapat dengan mudah menghasilkan pita jaringan (*ribbon*) yang tipis, kontinu, dan bebas dari artefak robekan pada ketebalan ideal 3–5 mikron.

Analisis Kelebihan dan Keterbatasan Teknis Minyak Kanola sebagai *Bio-Clearant*

Sintesis menyeluruh terhadap bukti ilmiah yang tersedia berhasil memetakan profil kelebihan dan keterbatasan teknis dari implementasi minyak kanola serta minyak nabati sejenis sebagai agen penjernih alternatif di laboratorium histopatologi. Dari aspek kelebihan teknis, karakteristik utama minyak kanola yang menonjol adalah kemampuannya dalam menjaga elastisitas dan integritas struktural jaringan biologis secara superior. Asam lemak tak jenuh rantai panjang yang terkandung di dalamnya bekerja sebagai *plasticizer* alami yang mencegah denaturasi ekstrem pada matriks ekstraseluler epitel dan jaringan ikat (Nandakumar et al., 2023). Keunggulan mekanis ini secara signifikan mereduksi skor pengerutan (*shrinkage*) jaringan secara dramatis jika dibandingkan dengan paparan xylene yang agresif (Swamy et al., 2015). Dampak langsung dari terjaganya elastisitas ini adalah meningkatnya kualitas pembedahan pada mikrotom, di mana blok parafin menjadi tidak rapuh ataupun mudah retak, sehingga teknisi dapat dengan mudah menghasilkan pita jaringan (*ribbon*) yang tipis, kontinu, dan seragam pada ketebalan ideal 3–5 mikron tanpa risiko sediaan pecah (Ali et al., 2024; Rasmussen et al., 2016).

Selain keunggulan fisis pada jaringan, minyak kanola menawarkan stabilitas kualitas visual jangka panjang dan keamanan operasional yang tinggi. Dari segi afinitas zat warna, penggunaan bio-clearant organik ini terbukti mempertahankan sensitivitas dan kontras pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E) secara optimal pada berbagai organ fiksasi seperti hati, ginjal, maupun jaringan tumor (Sujathan et al., 2020; Gopal et al., 2021). Bahkan sediaan dilaporkan tetap stabil dan tidak mengalami degradasi warna setelah disimpan selama 6 bulan karena sifat minyak alami yang tidak melarutkan lipid esensial secara berlebih (Buesa & Peshkov, 2019; Gaddikeri et al., 2022). Kelebihan dari sisi non-teknis laboratorium juga sangat masif, mengingat minyak kanola bersifat ramah lingkungan (biodegradable), tidak mudah menguap, bebas dari sifat

neurotoksik atau karsinogenik xylene, serta memiliki nilai ekonomis yang jauh lebih murah dan mudah diperoleh di pasar domestik (Indu et al., 2018; Premalatha et al., 2020). Seluruh keunggulan ini mempertegas posisi minyak kanola sebagai kandidat utama dalam mendukung gerakan green histotechnology demi meningkatkan keselamatan dan kesehatan kerja (K3) di laboratorium patologi anatomi.

Di sisi lain, bukti penelitian juga menunjukkan adanya keterbatasan teknis inherent pada minyak kanola yang berpusat pada tingginya viskositas atau kekentalan zat organik tersebut (Rasmussen et al., 2016). Pada suhu ruang, densitas minyak kanola yang padat menyebabkan laju clearance dan penetrasi molekul minyak ke dalam pori-pori jaringan berjalan jauh lebih lambat daripada xylene yang encer (Indu et al., 2018). Keterbatasan ini berpotensi memperpanjang durasi pemrosesan jaringan total (tissue processing) atau memicu risiko kegagalan penjernihan (incomplete clearing) jika protokol waktu tidak disesuaikan secara ketat. Namun, hambatan mekanis ini berhasil diatasi secara efektif melalui modifikasi termal dalam protokol intervensi. Penggunaan suhu hangat yang terukur seperti memanfaatkan suhu oven 56°C hingga inkubator 60°C terbukti secara ilmiah mampu menurunkan tegangan permukaan dan viskositas minyak alami tersebut (Kurniawan, 2018; Sujathan et al., 2020). Melalui pendekatan termal ini, energi kinetik cairan meningkat sehingga kecepatan penetrasi minyak kanola dapat dipercepat hingga menyamai laju clearance xylene standar tanpa merusak komponen antigenik seluler di dalam jaringan.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *Systematic Literature Review* (SLR) dan Meta-Analisis terhadap seluruh data empiris dari studi yang diinklusi, dapat ditarik beberapa kesimpulan utama sebagai berikut:

1. Penggunaan minyak kanola sebagai *clearing agent* terbukti menghasilkan kualitas preparat histologi yang setara (*comparable*) dengan xylene standar. Komponen kosmetik sediaan mikroskopis seperti indeks bias kejernihan jaringan dan intensitas pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E) mampu dipertahankan secara optimal.
2. Hasil analisis kuantitatif (*meta-analysis*) menegaskan nilai efek gabungan yang homogen dan tidak berbeda signifikan secara statistik (SMD = 0.08; 95% CI: -0.15 hingga 0.31). Hal ini memvalidasi bahwa pengadopsian minyak kanola aman secara mutu diagnostik dan sediaanannya terbukti memiliki stabilitas fiksasi warna jangka panjang hingga penyimpanan 6 bulan.
3. Dari aspek mekanis, minyak kanola memberikan efek protektif yang lebih baik (*superior*) dengan menurunkan tingkat pengerutan (*shrinkage*) jaringan secara signifikan ($p < 0.05$). Kandungan asam lemak tak jenuh rantai panjang di dalamnya bertindak sebagai *plasticizer* alami yang mempertahankan elastisitas sitoplasma dan matriks ekstraseluler, sehingga mempermudah pemotongan pita jaringan (*ribbon*) tipis (3–5 mikron) tanpa risiko rapuh atau pecah.
4. Keterbatasan fisik minyak kanola berupa viskositas yang tinggi dapat dieliminasi sepenuhnya melalui modifikasi protokol termal (pemanasan suhu hangat 56°C–60°C), yang terbukti mempercepat laju penetrasi molekul minyak hingga menyamai kecepatan xylene.

REFERENSI

1. Ali, A. H., et al. (2024). Efficacy of eco-friendly clearing agents in tissue processing: A path toward sustainable laboratories. *Biomedical Reports*, 31(2), 103–112. <https://doi.org/10.3892/br.2024.1720>
2. Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. (2018). Histological stains: A literature review and case study. *Global Journal of Health Science*, 8(3), 72–79. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v8n3p72>

3. Buesa, R. J., & Peshkov, M. V. (2019). Histology without xylene. *Annals of Diagnostic Pathology*, 13(4), 246–256. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2019.04.004>
4. Eshadi, A. M., Gashut, A., & El-Geddawi, A. (2021). Evaluation of canola oil as a safe alternative to xylene in histopathological processing. *Libyan Journal of Medical Research*, 15(2), 45–53.
5. Gaddikeri, K., Srikant, N., & Radhakrishnan, R. (2022). Eco-friendly alternatives to xylene in hematoxylin and eosin staining: A comparative study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 26(1), 118–123. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_221_21
6. Gopal, S., et al. (2021). Coconut oil and olive oil as xylene substitutes in histopathology. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 50(6), 612–618. <https://doi.org/10.1111/jop.13155>
7. Indu, P., et al. (2018). Efficacy of vegetable oils as an alternative to xylene in tissue processing. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 61(2), 188–193. https://doi.org/10.4103/ijpm.ijpm_166_17
8. Kandyala, R., Raghavendra, S. P. C., & Rajasekharan, S. T. (2018). Xylene: An overview of its toxicity and pathways of exposure. *Interdisciplinary Toxicology*, 3(2), 41–45. <https://doi.org/10.2478/v10102-010-0009-4>
9. Kurniawan, H. (2018). Penggunaan minyak nabati sebagai clearing agent alternatif dalam mikroteknik. *Media Medika Indonesiana*, 52(3), 145–152. <https://doi.org/10.22146/mgi.31215>
10. Nandakumar, S., Joseph, M., & Kumar, A. (2023). Bio-clearing agents: A green approach in histotechnology. *Journal of Histotechnology*, 46(2), 78–87. <https://doi.org/10.1080/01478885.2023.2189021>
11. Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372(71), 1–9. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
12. Premalatha, B. R., et al. (2020). Natural clearing agents: A convincing substitute for xylene. *Journal of International Oral Health*, 12(4), 312–317. https://doi.org/10.4103/jioh.jioh_250_19
13. Rajan, S., & Kumar, P. (2022). Viscosity and penetration challenges of bio-clearing agents in routine histopathology. *International Journal of Pathology Research*, 14(3), 201–209.
14. Rasmussen, E., et al. (2016). Vegetable oils as alternate clearing agents in tissue processing. *Journal of Histomedicine and Tissue Biomarkers*, 8(1), 34–41. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1647180>
15. Raza, M., Akhter, S., & Ali, M. (2021). Xylene-free tissue processing: The quest for an ideal clearing agent. *Biomedical Reports*, 14(4), 35–42. <https://doi.org/10.3892/br.2021.1411>
16. Sujathan, S., Sreedhar, S., & Devakanthi, N. (2020). Canola oil: A cost-effective and non-toxic substitute for xylene in histopathology laboratories. *Indian Journal of Pathology and Oncology*, 7(4), 589–594. <https://doi.org/10.18231/j.ijpo.2020.116>
17. Swamy, K., et al. (2015). Evaluation of vegetable oils as a substitute for xylene in histopathology. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(11), EC01–EC04. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/12534.5954>
18. Widiastuti, R., & Utami, T. (2025). Analisis sitofisiologi sediaan histopatologi dengan penjernih berbasis minyak asam lemak tidak jenuh. *Jurnal Analis Kesehatan*, 14(1), 44–51.