

## Pengaruh Penambahan Citronella pada Formalin terhadap Efektivitas Embalming Otot Gastrocnemius

Setyo Trisnadi

Bagian Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung  
(UNISSULA) Semarang; trisnadisetyo@gmail.com (koresponden)

### ABSTRACT

*Formalin is an embalming agent has been standardized to preserve corpses that have strong scent that interfere with the surrounding environment. How to remove the smell of the one with the addition of scented deodorant form citronella. This study aimed to determine the effect of the addition citronella to formalin on the effectivity embalming of gastrocnemius muscle. The methods in this post test control study, 25 male wistar rats were randomly divide in to 5 groups : K1 / control group (formalin 10 ml), K2 (formalin 10 ml and citronella 2,5 ml) K3 (formalin 10 ml and citronella 5 ml ), K4 (formalin 10 ml and citronella 7,5 ml ), K5 (formalin 10 ml and citronella 10 ml). The hypodermic injection of the mixture was given after termination. Tissue sample of the rats taken 48 h post-mortem were histopathologically prepared. Data were analyzed with normality and homogeneity test followed by Kruskal Wallis and Mann Whitney test. The result mean number of autolysis cells for the 5 groups were  $1.88 \pm 3.67$ ,  $18,11 \pm 10,01\%$ ,  $4,82 \pm 3,45\%$ ,  $17,54 \pm 10,71\%$ ,  $26,92 \pm 22,72\%$ , respectively. There were significant different among the groups ( $p < 0.05$ ). The significant different between control group (K1) with K2, K4, K5. Then, between K2 with K3, and between K3 with K5. Conclusion addition of citronella to formalin has effect on the effectivity embalming of gastrocnemius muscle.*

**Keywords:** histopathology of gastrocnemius muscle; formalin; citronella; embalming

### ABSTRAK

Penggunaan formalin memiliki efek samping yang berpotensi membahayakan kesehatan serta bau yang ditimbulkan sangat mengganggu lingkungan sekitar. Citronella merupakan salah satu minyak wangi alami yang memiliki sifat antibakteri. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh penambahan citronella pada formalin terhadap efektivitas embalming otot gastrocnemius tikus galur Wistar jantan. Penelitian eksperimental dengan rancangan post test only control group design dengan 25 ekor tikus galur wistar jantan dibagi dalam 5 kelompok kemudian didislokasi servikal. Kelompok I disuntikan 10 ml formalin. Kelompok II-V disuntikan campuran formalin-citronella dengan dosis bertingkat. Setiap kelompok diambil jaringan otot gastrocnemius 48 jam post mortem kemudian diamati secara histopatologi dengan mikroskop cahaya dengan pengecatan HE dengan perbesaran 400x. Data dianalisis dengan uji normalitas dan homogenitas kemudian dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney. Penelitian ini telah melewati ethical clearance. Gambaran histopatologi otot gastrocnemius tikus galur wistar jantan yang diberi formalin 48 jam post mortem adalah  $1,88 \pm 3,67\%$  sedangkan pada campuran formalin-citronella 2,5 ml adalah  $18,11 \pm 10,01\%$ , pada campuran formalin-citronella 5 ml adalah  $4,82 \pm 3,45\%$ , pada campuran formalin-citronella 7,5 ml adalah  $17,54 \pm 10,71\%$  dan pada campuran formalin-citronella 10 ml adalah  $26,92 \pm 22,72\%$ . Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan hasil yang signifikan  $p=0,009$  ( $p < 0,05$ ). Kemudian uji Mann Whitney diketahui ada perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (kelompok II, IV, dan V) ( $p < 0,05$ ), antara kelompok II dengan kelompok III ( $p=0,028$ ), dan antara kelompok III dengan kelompok V ( $p=0,028$ ). Kesimpulan : Terdapat pengaruh penambahan citronella pada Formalin terhadap efektivitas embalming otot gastrocnemius pada tikus galur wistar jantan.

**Kata kunci:** formalin; citronella; histopatologi otot gastrocnemius; embalming

### PENDAHULUAN

Pada beberapa kasus kematian, pengawetan mayat atau embalming dibutuhkan misalnya untuk keperluan pembelajaran pada bidang kedokteran. Proses pengawetan mayat yang dilakukan biasanya menggunakan bahan kimia berupa formalin<sup>(1)</sup>. Pengawetan dapat berhasil apabila baik organ maupun jaringan dari mayat dengan penyusutan dan distorsi minimal. Formalin juga berfungsi untuk mencegah pengerasan berlebihan, mencegah dari pengeringan akibat pengawetan, dan melindungi dari timbulnya bakteri maupun jamur<sup>(2)</sup>. Penggunaan formalin memiliki efek samping yang berpotensi membahayakan kesehatan. Bau yang ditimbulkan sangat mengganggu lingkungan sekitar. Untuk menghilangkan bau menyengat formalin, diperlukan metode tertentu dalam proses pengawetan mayat<sup>(3)</sup>. Bau menyengat dari formalin dapat dihilangkan dengan pemberian pewangi deodorant<sup>(4)</sup>. Salah satu bahan pewangi yaitu citronella dari tumbuhan aromaterapi. Perlu dilakukan penelitian untuk menghilangkan bau formalin dengan menambahkan pewangi citronella namun tetap efektif untuk bahan embalming dibandingkan dengan formalin karena penelitian tersebut belum pernah dilakukan.

Penggunaan formalin dengan konsentrasi tinggi (37%) dapat berdampak negatif pada manusia melalui inhalasi dari. Dampak yang ditimbulkan dapat berupa iritasi pada mata maupun membran mukosa, bahkan memiliki efek karsinogenik<sup>(5)</sup>. Pada penelitian dari International Agency for Research Cancer (IARC), menetapkan bahwa terdapat kemungkinan efek karsinogenik dari formaldehida pada manusia<sup>(6)</sup>.

Pada tahun 2016, Turan dkk di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Adnan Menders Turki, telah melakukan penelitian dengan membuat bahan pengawet baru yang memiliki bau tidak menyengat yang terdiri dari campuran sabun cair, etanol dan asam sitrat. Pengawet baru tersebut diujikan pada hewan dan mampu mengawetkan kambing. Etanol digunakan sebagai pengganti formalin yang berfungsi sebagai agen fiksatif pada jaringan tubuh. Dalam sabun cair terdapat gliserin yang akan bekerja bersama dengan etanol sebagai agen fiksatif dan mencegah pengerasan pada jenazah. Asam sitrat berfungsi untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur, sehingga ketiga bahan tersebut dijadikan bahan pengawet baru untuk menggantikan formalin<sup>(7)</sup>.

Berdasarkan uraian di atas, bahwa penambahan pewangi citronella pada formalin namun tetap efektif untuk embalming belum pernah dibuktikan. Untuk itu, akan dilakukan penelitian untuk membuktikan pengaruh penambahan citronella pada formalin terhadap efektivitas embalming.

**METODE**

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian experimental dengan menggunakan rancangan penelitian “Post-Test Only Control Group Design”. Variabel bebas pada penelitian ini adalah penambahan citronella pada formalin, sedangkan variabel tergantungan yang dinilai adalah efektivitas embalming.

Penambahan citronella pada formalin didefinisikan dengan pencampuran citronella pada formalin kemudian ditambah dengan emulgator. Campuran tersebut dibuat dengan berbagai macam komposisi yang berbeda. Komposisi 1 (campuran formalin 10 ml dan citronella 2,5 ml), komposisi 2 (campuran formalin 10 ml dan citronella 5 ml), komposisi 3 (campuran formalin 10 ml dan citronella 7,5 ml), komposisi 4 (campuran formalin 10 ml dan citronella 10 ml). Kemudian masing-masing diinjeksikan pada tikus yang sudah di dislokasi servikal dan diamati efektivitasnya setelah 48 jam post- mortem.

Efektivitas embalming dilihat dari gambaran histopatologi otot gastrocnemius kaki kanan dengan menghitung jumlah sel otot gastrocnemius yang mengalami autolisis yang diamati pada 5 lapang pandang dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 40 x 10 yang mengalami autolisis dibagi dengan jumlah seluruh sel otot gastrocnemius dikali 100%.

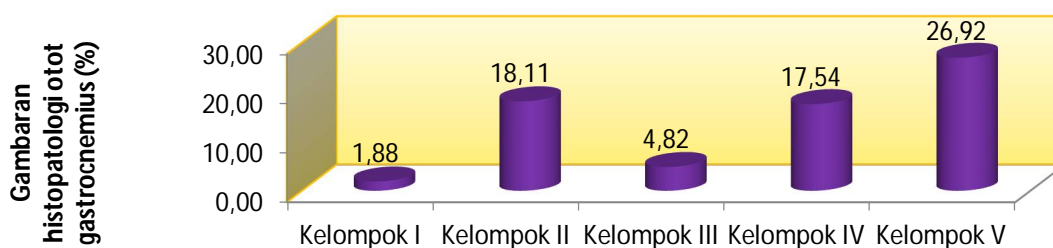
Populasi penelitian adalah tikus galur Wistar jantan sebanyak 25 ekor yang dikembangkan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sedangkan sampel penelitiannya adalah populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi tersebut antara lain tikus galur Wistar yang telah diaklimatisasi, sehat dari pengamatan luar meliputi aktif bergerak, tidak cacat, nafsu makan normal dan tidak terdapat luka luar, umur 2-3 bulan, berat 200-250 gram. Kemudian tikus didislokasi servikal dan diinjeksikan berbagai macam komposisi campuran formalin-citronella. Setelah 48 jam post mortem, jaringan otot gastrocnemius sebelah kanan diambil dan diamati secara histopatologi untuk dinilai presentase autolisis pada masing-masing kelompok.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang sebagai tempat perlakuan dan pengambilan jaringan hewan coba dan Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang sebagai tempat pemeriksaan gambaran histopatologi otot gastrocnemius tikus galur wistar jantan. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni - Juli 2017. Penelitian ini sudah memenuhi prasyarat penelitian yang dikeluarkan oleh Komisi Bioetik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung No.216/VII/2017/Komisi Bioetik tentang Ethical Clearance

Pengolahan analisis data dilakukan secara komputerisasi dengan menggunakan SPSS. Analisis dengan uji non parametrik yaitu uji Kruskal Wallis untuk mengetahui apakah hasil penelitian signifikan atau tidak. Pada uji Kruskal Wallis didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang berarti ada beda sehingga dilakukan uji Mann-Whitney.

**HASIL**

Telah dilakukan penelitian tentang penambahan citronella pada formalin terhadap efektifitas embalming otot gastrocnemius. Penelitian menggunakan 25 ekor tikus wistar jantan. Setelah aklimatisasi 3 hari, secara random tikus dibagi 5 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Masing-masing tikus dilakukan dislokasi tulang leher hingga mati untuk kemudian disuntik formalin 10 ml (kelompok I), sedangkan untuk kelompok II-V disuntik formalin 10 ml dicampur dengan citronella dalam serial dosis yaitu 2,5 ml, 5 ml, 7,5 ml dan 10 ml.



Gambar 1. Histopatologi otot gastrocnemius antar kelompok

Kelompok I mengalami kerusakan sebesar 1,8 %. Kelompok II mengalami kerusakan sebesar 18,11 %, pada kelompok III mengalami penurunan kerusakan menjadi 4,82%, pada kelompok IV meningkat kembali menjadi 17,54% dan pada kelompok V meningkat menjadi 26,92%.

Tabel 1. Hasil pengamatan gambaran histopatologi otot gastrocnemius antar kelompok

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V
Mean ± SD (%)	1,88±3,67	18,11±10,01	4,82± 3,45	17,54±10,71	26,92±22,72
Shapiro wilk	0,001	0,683*	0,304*	0,824*	0,214*
Transformasi	0,023	0,843*	0,409*	0,386*	0,730*
Levene test	0,776 <sup>^</sup>				
Kruskal Wallis	0,009 <sup>#</sup>				

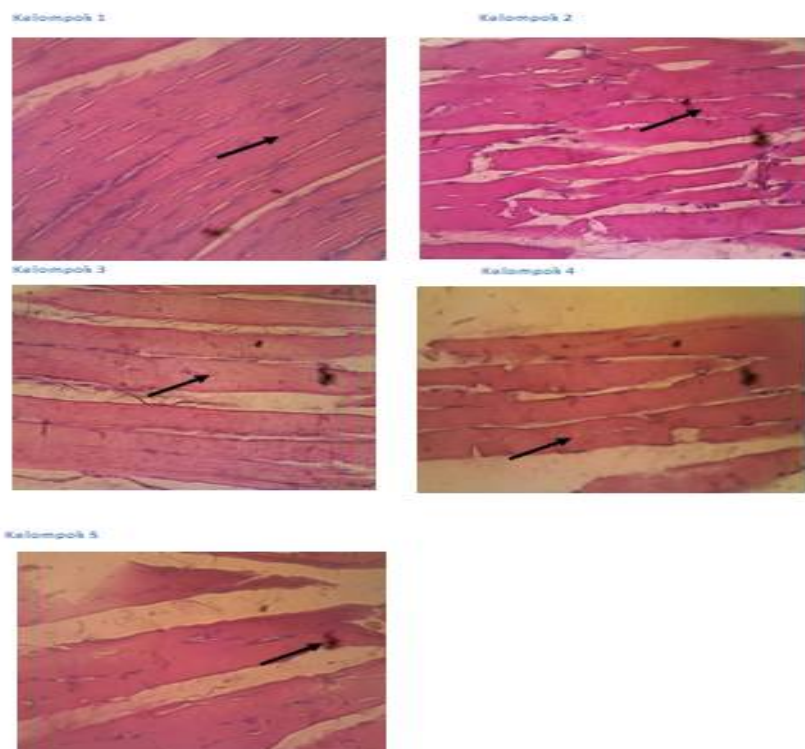
Sebaran data gambaran histopatologi otot gastrocnemius pada sebagian besar kelompok semuanya normal, yang ditunjukkan dari uji shapiro wilk dan diperoleh  $p > 0,05$ , tetapi tidak untuk kelompok I meskipun sudah dilakukan transformasi ( $p < 0,05$ ). Keragaman varian data homogen, terlihat dari hasil uji levene dengan nilai  $p$  sebesar 0,776 ( $p > 0,05$ ). uji non parametrik kruskal wallis dan diperoleh nilai  $p$  sebesar 0,009 ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat

dinyatakan bahwa terdapat perbedaan gambaran histopatologi otot gastrocnemius diantara kelima kelompok. Berikutnya untuk mengetahui perbedaan gambaran signifikansi antar kelompok dilakukan uji mann whitney

Tabel 2. Hasil uji beda gambaran histopatologi otot gastrocnemius

Kelompok	I	II	III	IV	V
I	-	0,015*	0,169	0,015*	0,015*
II	0,015*	-	0,028*	0,917	0,465
III	0,169	0,028*	-	0,076	0,028*
IV	0,015*	0,917	0,076	-	0,465
V	0,015*	0,465	0,028*	0,465	-

Perbedaan gambaran histopatologi otot gastrocnemius yang bermakna ditunjukkan antara kelompok I dengan kelompok II, IV, dan V ( $p < 0,05$ ), antara kelompok II dengan kelompok III ( $p = 0,028$ ), dan antara kelompok III dengan kelompok V ( $p = 0,028$ ).



Keterangan :

1. Gambaran sel otot gastrocnemius pada kelompok kontrol
2. Gambaran sel otot gastrocnemius pada komposisi 1
3. Gambaran sel otot gastrocnemius pada komposisi 2
4. Gambaran sel otot gastrocnemius pada komposisi 3
5. Gambaran sel otot gastrocnemius pada komposisi 4

Penjelasan :

Kelompok 1 : serabut otot tersusun padat, struktur inti masih utuh dan sarkoplasmanya homogen dan padat, dijumpai autolisis.

Kelompok 2 : serabut otot tersusun padat dengan inti masih ada, sarkoplasma homogen, dijumpai autolisis.

Kelompok 3 : serabut otot tersusun padat, inti masih ada, autolisis sedikit.

Kelompok 4 : serabut otot longgar, kehilangan inti, ditemukan autolisis.

Kelompok 5 : sebagian serabut otot longgar dan ada yang padat, inti masih ada, sarkoplasma homogen, ditemukan autolisis.

Gambar 2. Morfologi sel otot gastrocnemius yang diamati dengan mikroskop perbesaran 400x dengan pewarnaan Hematoxilin-Eosin setelah 48 jam post-mortem.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi otot gastrocnemius pada kelompok I dibandingkan dengan kelompok II, III, IV, V menunjukkan bahwa pemberian formalin (formaldehida 37-40% dalam air) efektif dalam proses embalming otot gastrocnemius dengan presentase autolisis terendah yaitu 1,8 %. Formalin merupakan bahan kimia terpenting yang digunakan untuk tujuan pengawetan/pembalsaman mayat<sup>(8)</sup>. Formalin ditetapkan sebagai agen preservatif terbaik dan menjadi dasar metode embalming modern<sup>(9)</sup>, dan menetapkan konsentrasi sebesar 10% untuk preservasi<sup>(8)</sup>.

Pada kelompok II sampai dengan kelompok V yang menggunakan campuran formalin-citronella mengalami peningkatan kerusakan akibat autolisis dilihat dari kerusakan sel pada gambaran histopatologi. Pilihan citronella sebagai tambahan agen embalming karena citronella juga memiliki aktivitas antibakteri dan juga antijamur dan

memiliki kemampuan dalam menghambat modifikasi struktur protein<sup>(10)</sup>. Sehingga diharapkan tidak mempengaruhi efektifitas embalming dengan formalin. Terdapat kontradiktif antara teori dengan hasil penelitian ini.

Penambahan citronella menunjukkan penurunan efektifitas embalming, diduga hal ini terjadi karena perbedaan panjang rantai karbon antara citronella dan formalin, meskipun keduanya merupakan senyawa aldehida, akan tetapi tingkat kepolaran keduanya berbeda. Formalin (CH<sub>2</sub>O) lebih mudah larut dalam air sedangkan citronella (C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O) sangat sukar larut dalam air karena rantai karbonnya jauh lebih panjang<sup>(11)</sup>.

Perbedaan panjang rantai karbon antara formalin dan citronella menyebabkan keduanya tidak dapat menyatu secara sempurna meskipun telah digunakan surfaktan (Tween 80) sebagai emulsifier. Sehingga fungsi dari formalin dan citronella tidak saling mendukung secara optimal. Hal ini tampak dari variasi gambaran histopatologi otot gastrocnemius tiap kelompok yang tidak homogen.

## KESIMPULAN

Terdapat pengaruh penambahan citronella pada formalin terhadap efektifitas embalming otot gastrocnemius pada tikus galur wistar jantan. Diperoleh komposisi campuran yang paling efektif sebagai pengawet yaitu komposisi 3 (formalin 10 ml + citronella 5 ml) pada waktu 48 jam post-mortem melalui gambaran histopatologi otot gastrocnemius.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Edmund G, Brown JR. Information and instructions for embalmer licensure. 2011. [Accessed on 26 Januari 2016] Available from: <http://www.cfb.ca.gov>
2. Coleman et al. An improved low-formaldehyde embalming fluid to preserve cadavers for anatomy teaching. *Journal of anatomy*. 2018. Pages 443-446.
3. Atmadja DS. Tatacara dan pelayanan pemeriksaan serta pengawetan jenazah pada kematian wajar. Jakarta: Bagian Kedokteran Forensik dan Medikolegal FKUI / RSUPN Cipto Mangunkosumo. 2002. [diakses pada 26 Januari 2017] diunduh dari: <http://www.tatacaraembalming.com>.
4. Bajacharya S, Magar A. Embalming an Art of Preserving of human Body. Medical student tutor, Department of Anatomy, Kathmandu Medical College. 2016. Vol 4, No. 4, Issue 16 p. 554-557
5. Dixit D, Athavia PD, Pathak HM. Toxic effects of embalming fluid on medical students and professionals. *JIAFM*. 2015;27(4):209-11 ed revisi
6. Abdollahi M, Hosseini A. *Encyclopedia of toxicology* Ed 3. Formaldehyde. 2014. Pages 653-656
7. Turan, et al. The mixture of liquid foam soap, ethanol and citric acid as a new fixative-preservative solution in veterinary anatomy. *Jurnal Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger*, Volume 209, 2016. Pages 11-17
8. Brenner E. Human body preservation – old and new techniques. *Journal of Anatomy*, 2014. 24(3), 316-344. <http://doi.org/10.1111/joa.12160>
9. Ezugworie J, Anibeze C, Ozoemena R. Trends in the development of embalming methods. *Internet J Altern Med*; 7, 2014. ed revisi. doi: 10.5580/29b.
10. Melo MS, Guimarães AG, Santana MF, Siqueira RS, Lima ADCBC, Dias AS, et al. Anti-inflammatory and redox-protective activities of citronellal. 2011. *Biol Res* 44: 363-368, <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602011000400008>.
11. Fessenden RJ, Fessenden JS. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga. 2014 ed. Revisi p. 361.