

**COMPARISON OF CHLORAMPHENICOL, ERYTHROMYCIN AND  
FORMALIN WITH DIFFERENT DOSES AGAINST THE INHIBITION  
OF THE GROWTH OF *Clostridium perfringens*:  
Evaluation Study Method of Preserving Bodies**

**PERBANDINGAN KLORAMFENIKOL, ERITROMISIN DAN  
FORMALIN DENGAN BERBAGAI DOSIS TERHADAP  
PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *Clostridium perfringens*:  
Studi Evaluasi Metode Pengawetan Jenazah**

**IDSAP Peramiarti<sup>1\*</sup>, Muhammad Zaenuri Syamsu Hidayat<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNSOED Purwokerto

<sup>2</sup>Departemen Forensik Fakultas Kedokteran UNSOED Purwokerto

**ABSTRACT**

*Death is the cessation of function of the circulatory system and respiratory system, or brain stem death has occurred. Decomposition is natural process that occur shortly after death. The main bacteria involved in the decomposition process is *Clostridium perfringens*. The process of decomposition sometimes need to be inhibited by the preservation bodies. Preserving the corpse is a medical procedure for the provision of certain chemicals such as formalin or can used a broad spectrum antibiotic chloramphenicol and erytromicine. This study aims to test the effectiveness of various doses of chloramphenicol, erytromicine and formaline in inhibiting the growth of *Clostridium perfringens*. This was an experimental study with post test only and contol group design. The treatment of various doses of chloramphenicol 0,25 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, and 4 µg/ml; Erythromycin doses were 0,2 µg/mL, 0,4 µg/mL, 0,8 µg/mL, 1,6 µg/mL, and 3,2 µg/mL and formalin was given at 2%, 4%, 6%, 8%, and 10% in liquid medium Nutrient Broth. Incubated for 24 hours at 37 ° C, and then planted in agar plate wiith spread plate method to determine the growth of bacteria. Bacterial growth was calculated by colony counter, then the percentage inhibition was determined. Data were analyzed using parametric tests One Way Annova and Post Hoc Test. The effective concentration was determined by Minimum Inhibitory Concentration 50 (MIC<sub>50</sub>). Data were analyzed using One Way Annova test, showed p value=0,009 (p<0,05) which meant that there were significant difference between the number of colony inhibition with number of doses given to *C. perfringens*, and the results of Post Hoc Test concentration of formaldehyde 10% and 8% had the lowest number of colonies or has the ability to inhibit the growth of *c. perfringens* bacteria most of 80% and 63%, so it can be said to be effective concentration (MIC<sub>50</sub>) at 8% formalin treatment with inhibition of growth of 63%.*

**Keywords:** *Decomposition, *Clostridium perfringens*, chloramphenicol, Erythromycin, Formalin, Antibacterial, Disinfectant, MIC<sub>50</sub>.*

## ABSTRAK

Kematian adalah berhentinya sistem fungsi jantung atau sirkulasi, sistem pernafasan, dan telah terjadi kematian batang otak. Sesaat setelah terjadi kematian akan terjadi proses pembusukan. Bakteri utama yang berperan dalam proses pembusukan adalah bakteri *Clostridium perfringens*. Proses pembusukan terkadang perlu dihambat dengan pengawetan jenazah. Pengawetan jenazah adalah tindakan medis berupa pemberian bahan kimia seperti formalin atau dapat menggunakan antibiotik spektrum luas bersifat bakteriosidal seperti eritromisin dan kloramfenikol. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan, eritromisin, kloramfenikol dan formalin dalam menghambat pertumbuhan *C. perfringens* serta menentukan konsentrasi senyawa atau antibiotik yang efektif. Jenis penelitian ini adalah true eksperimental dengan pendekatan *post-test only with control group design*. Konsentrasi kloramfenikol yang diberikan dosis 0,25 µg/mL, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, dan 4 µg/mL; eritromisin dosis 0,2 µg/mL, 0,4 µg/mL, 0,8 µg/mL, 1,6 µg/mL, dan 3,2 µg/mL; formalin sebesar 2%,4%,6%,8%, dan 10% dalam medium Nutrient Broth. Dilakukan inkubasi 24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup>C, lalu penanaman di medium agar cawan dengan metode spread plate untuk mengetahui pertumbuhan bakteri. Bakteri yang tumbuh kemudian dihitung dengan *colony counter* dan dilakukan perhitungan presentase penghambatan. Data yang diperoleh diuji menggunakan uji parametrik *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test*. Konsentrasi senyawa efektif dilihat berdasarkan *Minimum Inhibitory Concentration 50* (MIC<sub>50</sub>). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah koloni sangat dipengaruhi oleh jenis senyawa karena  $p = 0,009$  ( $p < 0,05$ ), dan hasil *Post Hoc Test* konsentrasi formalin 10% dan 8% memiliki jumlah koloni paling rendah atau mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *C. perfringens* bakteri paling besar sebesar 80% dan 63%, sehingga dapat dikatakan sebagai konsentrasi efektif (MIC<sub>50</sub>) pada perlakuan formalin 8% dengan penghambatan pertumbuhan sebesar 63%..

**Kata kunci:** Pembusukan, *Clostridium perfringens*, Kloramfenikol, Eritromisin, Formalin, Antibakterial, Desinfektan, MIC<sub>50</sub>.

---

### Penulis korespondensi:

IDSAP Peramiarti

Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman,,

Jln Dr. Gumbreg Nomor 1 Mersi Purwokerto 53112

Email : dewa.putu@unsoed.ac.id

## PENDAHULUAN

Kematian merupakan suatu hal yang tidak dapat diprediksi, dalam bidang kedokteran seseorang dikatakan mati jika terjadi kematian batang otak. Kematian terkadang diawali dengan sakit, tetapi banyak pula yang mati secara tiba-tiba (Wahyudin, *et al.*, 2023). Proses pembusukan terjadi umumnya empat menit setelah kematian, akibat dari penghancuran bahan-bahan organik di dalam tubuh karena proses autolisis maupun aktivitas bakteri (Budiyanto, 1997; Dahlan, 2007; Skhrum dan Ramsay, 2007).

---

perbandingan kloramfenikol, eritromisin dan formalin dengan berbagai dosis terhadap penghambatan pertumbuhan *clostridium perfringens* (IDSAP Peramiarti)

Proses pembusukan diawali dengan proses autolisis yang menyebabkan terciptanya kondisi lingkungan anaerobik, lebih asam serta tersedianya nutrisi sebagai hasil lisisnya sel sehingga terjadi peningkatan laju pertumbuhan mikroflora normal tubuh. Populasi flora normal terbanyak terdapat pada sistem pencernaan yaitu  $\pm 10^{14}$  CFU/mL. Pada sistem pencernaan, flora normal yang berperan utama pada proses pembusukan adalah bakteri anaerob (96-99%).

Bakteri yang paling berperan dalam proses pembusukan adalah *C. perfringens*, merupakan flora normal usus manusia yang berperan dalam proses pembusukan alami. Aktivitas pembusukan oleh *C. perfringens* mengakibatkan perubahan struktur tubuh manusia yang menyebabkan jenazah sulit dikenali oleh keluarga (Shepherd, 2003; Sridhar, 2009; Rao, 2013).

Beberapa usaha dilakukan untuk mencegah pembusukan seperti menyimpan jenazah di kontainer pendingin atau dilakukan pengawetan jenazah (*embalming*). Pengawetan jenazah merupakan suatu tindakan medis berupa pemberian bahan kimia tertentu pada jenazah untuk menghambat proses pembusukan serta menjaga penampilan luar jenazah (Mosby, 2008).

Bahan kimia yang digunakan dalam pengawetan jenazah salah satunya adalah formalin. Formalin merupakan larutan tidak berwarna yang didalamnya terkandung 30-50% formaldehid dan 10-20% metanol dalam air. Formalin sebagai antimikrobia, menginaktivasi bakteri dengan cara merusak asam amino, DNA, mendenaturasi protein dinding bakteri (Maillard, 2002). Selain itu, formalin juga mampu melakukan penetrasi pada bagian dalam spora bakteri, oleh karena itu laju pertumbuhan bakteri dapat dihambat dan proses pembusukan tidak terjadi (McDonnal et al., 1999).

Formaldehida sering digunakan pada proses pengawetan, namun terdapat efek samping bagi tenaga kesehatan yang mengaplikasikannya (NICNAS, 2006; Mosby, 2008). Oleh karena itu, pengawetan jenazah dapat menggunakan antibiotik. Antibiotik spektrum luas dapat diteliti karena mampu membunuh bakteri gram positif dan negatif, salah satunya yaitu kloramfenikol dan eritromisin.

Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dengan berikatan pada unit ribosom 50 S sehingga mencegah terjadinya pembentukan protein (Katzung, 2006; Susanti *et al.*, 2009). Eritromisin merupakan antibiotik golongan makrolida yang dapat menghambat sintesis protein bakteri dengan jalan berikatan dengan ribosom subunit 50 S kadang dapat bersifat bakterisidal dengan konsentrasi yang tinggi untuk organisme yang sangat peka atau rentan (Poehlsaard & Douthwaite, 2005; Katzung, 2006).

## **METODE PENELITIAN**

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah *true experimental posttest-only with control group design* dengan rancangan acak lengkap pada berbagai dosis formalin (2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%), kloramfenikol (0,25 µg/mL, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, dan 4 µg/mL), eritromisin (0,2 µg/mL, 0,4 µg/mL, 0,8 µg/mL, 1,6 µg/mL, dan 3,2 µg/mL) dan akuades sebagai kontrol negatif. Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Clostridium perfringens*, koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, yang kemudian ditumbuhkan pada media selektif *Cooked Meat*, dan dilakukan

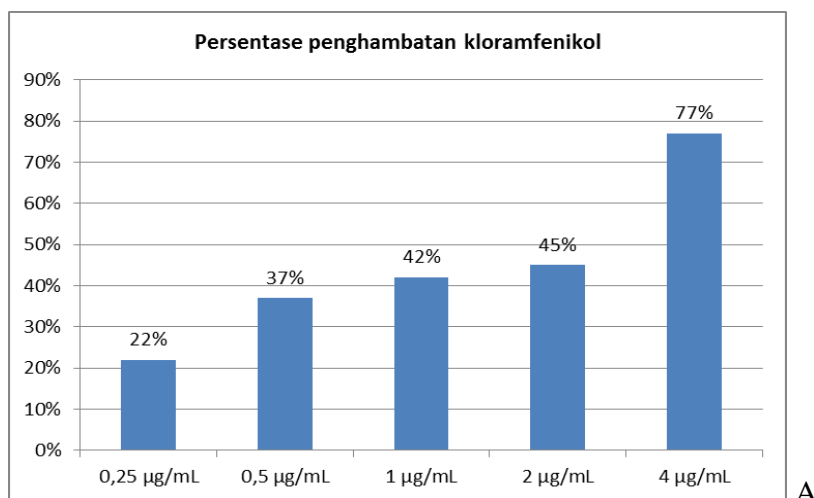
peremajaan pada media *Nutrient Broth* dengan inkubasi anaerob selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C (Vandepitte dan Verhaegen, 2010).

Pengujian menggunakan metode dilusi cair untuk ketiga bahan. Masing-masing dosis dibuat sebanyak 10 mL dan ditambah 1 mL suspensi kuman, diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C pada kondisi anaerob. Setelah dilakukan metode dilusi, dilakukan penanaman pada agar cawan yang berisi media selektif *Cooked Meat* dengan metode spread plate. Diinkubasi dalam anaerobic jar dengan ditambahkan generating gas kit selama 1 x 24 jam dengan suhu 37°C. Dilakukan perhitungan koloni pada cawan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) kemudian dilanjutkan dengan menghitung persentase penghambatan *C. perfringens*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

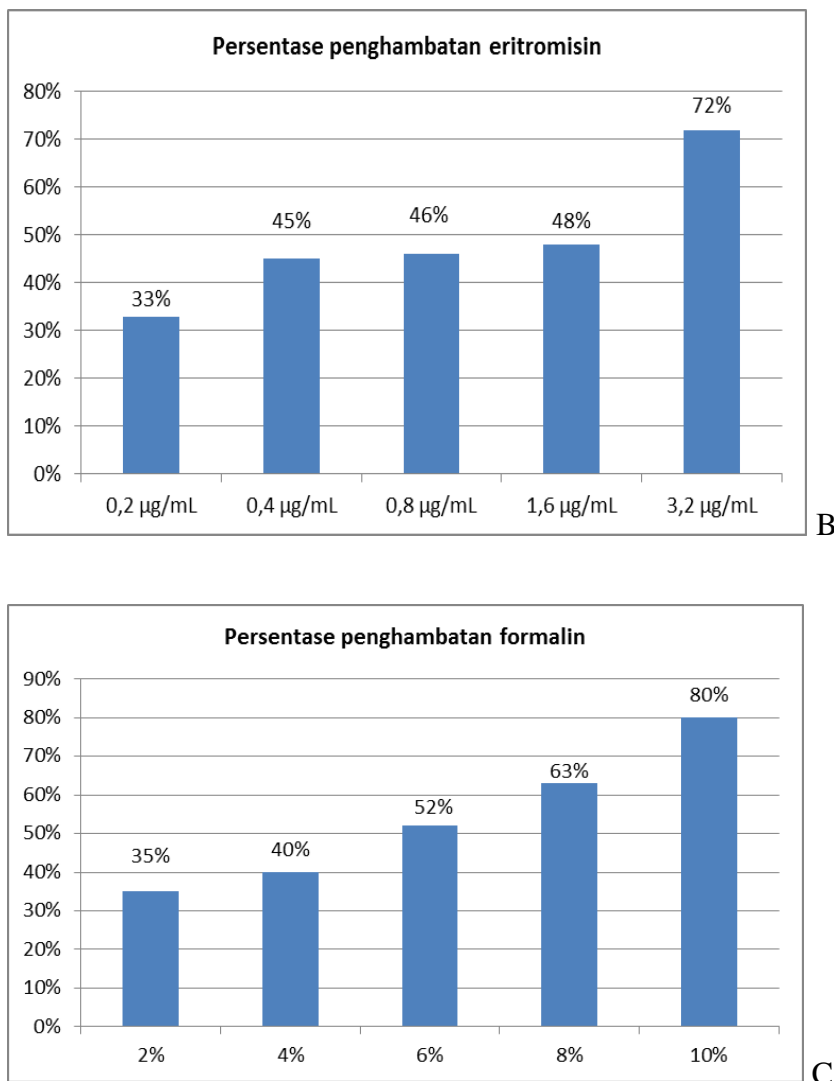
Kemampuan menghambat berbagai dosis kloramfenikol, eritromisin dan formalin terhadap pertumbuhan *C. perfringens* mulai terlihat dari konsentrasi terendah sampai dengan konsentrasi tertinggi. Persentase penghambatan berbagai dosis kloramfenikol, eritromisin dan formalin terhadap *C. perfringens* dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1. penghambatan pertumbuhan *C. perfringens* tertinggi pada konsentrasi 4 µg/mL (77%) untuk antibiotik kloramfenikol, 3,2 µg/mL (72%) untuk antibiotik eritromisin dan konsentrasi 10% (80%) untuk formalin. Penelitian ini menggunakan Minimum Inhibitory Concentration (MIC50) sebagai acuan untuk menentukan keefektifan suatu senyawa yaitu konsentrasi terendah dari suatu senyawa yang sudah mampu menghambat >50% bakteri (Andrews,2001).



A

perbandingan kloramfenikol, eritromisin dan formalin dengan berbagai dosis terhadap penghambatan pertumbuhan *clostridium perfringens* (IDSAP Peramiarti)



**Gambar 1.** Diagram persentase penghambatan pertumbuhan *C. perfringens* berbagai dosis / konsentrasi (A) kloramfenikol, (B) eritromisin dan (C) formalin

Kloramfenikol dan eritromisin sebagai antibakteri bersifat stereospesifik, karena hanya satu stereoisomer yang memiliki aktifitas antibakteri yaitu *D(-) treo-isomer* (Susanti *et.al.*, 2009). Kloramfenikol dan eritromisin merupakan antibiotik spektrum luas sehingga dapat menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif. Mekanisme kerja antibiotik ini adalah menghambat sintesis protein dengan jalan berikatan secara reversibel dengan ribosom subunit 50S yang mencegah reaksi translokasi aminoasil dan pembentukan kompleks inisiasi sehingga terjadi penghambatan translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam amino ke peptida yang berakibat rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena tidak dapat menerima kompleks baru t-RNA asam amino (Poehlsgaard & Douthwaite, 2005; Katzung, 2006).

Formalin sebagai agen biosidal menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak sitoplasma bakteri sehingga menghambat aktivitas enzim sitoplasma serta aktivitas biomolekul penting bakteri (DNA dan RNA) sehingga aktivitas metabolisme bakteri terhambat. Formalin juga berfungsi sebagai agen alkali akan bereaksi dengan protein amino, sulfidril, dan hidroksil. Alkali disini merupakan salah satu faktor eksogen penyebab terjadinya *cross-linked* pada DNA bakteri yang akan menghambat sintesis DNA bakteri dan bakteri akan mati (Denyer,1996).

Hasil *Annova test* (Tabel 1) pada perbedaan banyaknya jumlah koloni berdasarkan berbagai konsentrasi dan jenis senyawa diperoleh nilai  $p= 0,009$  ( $p<0.05$ ). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa penghambatan jumlah koloni *C. perfringens* sangat dipengaruhi oleh jenis senyawa, sehingga dilakukan *Post-Hoc Test*.

**Tabel 1.**Perbedaan banyaknya jumlah koloni berdasarkan konsentrasi dan jenis senyawa.

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.458E16	14	1.756E15	2.418	.009
Within Groups	4.357E16	60	7.261E14		
Total	6.815E16	74			

\*) koloni dipengaruhi oleh jenis senyawa karena Signifikansi < 0.05, sehingga memerlukan uji lanjut *Post Hoc Test*

Hasil *Post-Hoc Test* (Tabel 2) diperoleh bahwa pertumbuhan koloni *C. perfringens* pada perlakuan kloramfenikol dosis 0,25 µg/mL dan 0,5 µg/mL mempunyai jumlah paling tinggi, yaitu  $6,045 \times 10^7$  cfu/mL dan  $6,263 \times 10^7$  cfu/mL, sedangkan pertumbuhan koloni paling rendah pada perlakuan formalin konsentrasi 10% dan 8%, yaitu  $2,48 \times 10^5$  cfu/mL dan  $1,725 \times 10^5$  cfu/mL.

**Tabel 2.** Tabel *Post-Hoc Test (Turkey HSD)* perbedaan banyaknya jumlah koloni berdasarkan berbagai konsentrasi dan jenis senyawa

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Formalin 10%	5	172566.80		
Formalin 8%	5	248000.00	248000.00	
Eritromisin 3.2 ml/mg	5	18266667.40	18266667.40	18266667.40
Eritromisin 1.6 mg/ml	5	18936667.20	18936667.20	18936667.20
Kloramfenikol 4u	5	23983333.20	23983333.20	23983333.20
Formalin 6%	5	24816667.40	24816667.40	24816667.40
Eritromisin 0.8 mg/ml	5	29983332.60	29983332.60	29983332.60
Eritromisin 0.4 mg/ml	5	33133333.00	33133333.00	33133333.00
Formalin 4%	5	38716667.20	38716667.20	38716667.20
Eritromisin 0.2 mg/ml	5	39550000.00	39550000.00	39550000.00
Formalin 2%	5	44066668.40	44066668.40	44066668.40
Kloramfenikol 2u	5	44150000.00	44150000.00	44150000.00
Kloramfenikol 1u	5	48583332.80	48583332.80	48583332.80
Kloramfenikol 0.25u	5		60450000.00	60450000.00
Kloramfenikol 0.5u	5			62633333.20
Sig.		.254	.051	.389

perbandingan kloramfenikol, eritromisin dan formalin dengan berbagai dosis terhadap penghambatan pertumbuhan *clostridium perfringens* (IDSAP Peramiarti)

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Penghambatan pertumbuhan *C. perfringens* tertinggi pada konsentrasi 4 µg/mL (77%) untuk antibiotik kloramfenikol, 3,2 µg/mL (72%) untuk antibiotik eritromisin dan konsentrasi 10% (80%) untuk formalin.
2. *Post-Hoc Test (Turkey HSD)*, konsentrasi / dosis paling efektif ( $MIC_{50}$ ) dari ketiga senyawa adalah perlakuan menggunakan formalin konsentrasi 8% dengan penghambatan *C. perfringens* sebesar 63%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, Jennifer. M. 2001. Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 : 5-16.
- Budiyanto A, Widiatmaka W, Sudiono S. 1997. *Ilmu Kedokteran Forensik*. Jakarta : Bagian Kedokteran Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Dahlan S. 2007. *Ilmu Kedokteran Forensik. Pedoman Bagi Dokter dan Penegak Hukum*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro: Semarang.
- Denyer, S.P. 1996. Mechanism of Action Antibacterial Biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 96: 227-245.
- Katzung B.G. 2006. *Basic & Clinical Pharmacology*. New York : McGraw-Hill Companies.
- McDonnell, Gerald; Rusell, A Denver. 1999. American Society for Microbiology : Antiseptic and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance, 12 (1) : 147-179
- Maillard, J.Y. 2002. Bacterial target sites for biocide action. *Journal of Applied Microbiology Symposium*, 92: 16S-27S
- Mosby.2008. *Mosby's Medical Dictionary*. Philadelphia: Elseiver.
- National Industrial Chemicals Notification and Assesment Scheme (NICNAS). 2006. Formaldehyde. *Department of Health and Ageing: Australia*.
- Poehlsgaard, J., & Douthwaite, S., 2005. *The bacterial ribosome as a target for antibiotics*. *Nat Rev Microbiol*, 3(1): 870–881.
- Rao,Dinesh. 2013. *Putrefaction*. Available at : <http://www.forensicpathologyonline.com/e-book/post-mortem-changes/putrefaction>. Diakses pada 1 november 2015.
- Shepherd R. 2003. Changes After Death. In: *Simpson's Forensic Medicine Twelfth Edition* : London
- Skhrum M.J; Ramsay D.A. 2007. *Forensic Pathology of Trauma Common Problems for the Pathologist*. USA: Humana Press.
- Sridhar, P.N. 2009. *Anatomy of Bacteria Cell*. <http://www.microrao.com>. Diakses pada 4 November 2015.
- Susanti M, Isnaeni P, Sri. 2009. Validasi Metode Bioautografi untuk Determinasi Kloramfenikol. *Jurnal Kedokteran Indonesia*. 1(1): 15-24.
- Wahyudin, W., Rujito, L., Muntafiah, A., & Nurul Hidayah, A. (2023). Islamic Spiritual Education Through Visiting Patient App For Brain Tumor Patients. *Comprehensive Health Care*, 7(1), 60-68. <https://doi.org/10.37362/jch.v7i1.976>
- Vandepitte J.; Verhaegen J. 2010. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis*. Jakarta : EGC.