

Memperkirakan saat Kematian (*Postmortem Interval*) Menggunakan Temuan Mikrobiom pada Setiap Tahap-Tahap Penguraian (*Decomposition*): *An Evidence-Based Case Report*

*Afid Brilliana Putra¹, Ihya Fakhurizal Amin¹,
Rizky Dini Fitriyasa¹, Najma¹, Oktavinda Safitry²*

¹*Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia*

²*Department of Forensic and Medicolegal, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia*

Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta, Indonesia

**)Corresponding author: E-mail : afidbrilliana@gmail.com*

ABSTRAK

Mikroorganisme berperan penting dalam proses dekomposisi mayat. Dekomposisi mayat dapat menunjukkan waktu kematian atau *postmortem interval* (PMI). Dekomposisi bakteri berperan penting dalam menentukan waktu kematian dan memiliki pengaruh signifikan terhadap investigasi forensik. Oleh karena itu, perlu diketahui jenis mikrobiom yang muncul pada setiap tahapan dekomposisi. Penelusuran literatur dilakukan secara daring melalui 4 jurnal *database*, yaitu *PubMed*, *EBSCOhost*, *ProQuest*, dan *Cochrane*. Artikel hasil penelusuran diseleksi berdasarkan kriteria inklusi & eksklusi, selanjutnya ditelaah kritis memakai kriteria dari *CEBM* (*Centre for Evidence-Based Medicine*) *University of Oxford*. Diperoleh satu *systematic review*, dua studi kohort prospektif, dan satu studi potong lintang dengan validitas, kepentingan, dan kemampooterapan yang baik. Studi tersebut menunjukkan adanya asosiasi antara lama waktu kematian terhadap kolonisasi bakteri tertentu yang dipengaruhi oleh perubahan kadar oksigen. Bakteri anaerob fakultatif muncul pada awal fase dekomposisi, dan mengalami transisi menjadi bakteri anaerob obligat yang muncul pada fase akhir dekomposisi. Kemunculan jenis bakteri tertentu dapat dijadikan perkiraan durasi berlangsungnya tahapan dekomposisi dan penentuan saat kematian secara objektif dan kuantitatif.

Kata kunci: pembusukan, waktu kematian, tanatologi, mikrobiom, mikrobiologi forensik

ABSTRACT

Microorganisms play an important role in the process of corpses decomposition. The corpses decomposition can indicate time since death or postmortem interval (PMI). Bacterial decomposition plays an important role in determining the time since death and has a significant impact on forensic investigations. Therefore, it is necessary to know the type of microbiome that appears at each stage of decomposition. Literature searching was conducted online and was carried out through 4 journal databases, including PubMed, EBSCOhost, ProQuest, and Cochrane. The literature is selected based on inclusion & exclusion criteria, then critically appraised using criteria from the University of Oxford's Center for Evidence-Based Medicine. Based on the results, obtained a systematic review, two prospective cohorts and a cross-sectional study with good validity, importance and applicability. The study showed a relationship between time since death/PMI and colonization of certain bacteria, which may be related to alteration of oxygen levels. Facultative anaerobic bacteria appear in early stage of decomposition, and shift into obligate anaerobic bacteria in final stage of decomposition. Presence of certain types of microbiome can determine duration of decomposition and PMI objectively and quantitatively.

Key words: human decomposition, postmortem interval estimation, thanatology, microbiome, forensic microbiology

PENDAHULUAN

Pada saat manusia hidup, terdapat berbagai macam bakteri komensal atau flora normal pada bagian-bagian tubuh tertentu, seperti saluran cerna, rongga mulut, kulit, dan liang vagina. Bakteri ini hidup sebagai perlindungan dari bakteri yang merugikan dan membantu dalam proses pengolahan makanan (seperti rongga mulut dan saluran cerna), proses metabolisme, dan pencegahan infeksi. Mikro-organisme tersebut juga berperan penting dalam proses dekomposisi pada mayat. Jumlah spesies mikroba pada tubuh manusia paling banyak ada pada saluran cerna dan berikutnya ada pada rongga mulut.[1]

Jumlah mikroba secara total pada manusia mencapai $3,9 \times 10^{13}$ sel yang sebanding dengan seluruh jumlah mikroba pada tubuh manusia sehat dengan berat badan 70 kg. Rongga mulut dan saluran cerna merupakan organ utama yang berperan terhadap penguraian/ dekomposisi pada mayat. Pada saat manusia mengalami kematian, maka ada waktu kematian (*time since death/TSD*) atau disebut dengan interval postmortem (*postmortem interval/PMI*) yang bisa ditentukan dari perubahan fisik yang terlihat.[2]

PMI diklasifikasikan menjadi 3 fase, yaitu fase segera (*immediate*), awal (*early*), dan akhir (*late*). PMI fase segera adalah periode dimana tubuh mengalami perubahan fisiologi dan biokimia secara cepat akibat tidak adanya aliran darah dan fungsi regulator tubuh berhenti. Perubahan ini segera dapat dideteksi melalui mata dan kulit. Pada mata terjadi segmentasi pembuluh darah retina yang terjadi dalam waktu 30 menit – 2 jam. Kornea akan keruh dan dalam waktu 6 jam tekanan intarokular menurun hingga <4 mmHg. PMI fase awal merupakan periode waktu 3 – 72 jam

setelah kematian. Pada fase ini, muncul trias klasik kematian: algor mortis, livor mortis, dan rigor mortis. Fase akhir ditandai dengan jaringan tubuh yang mulai terdisintegrasi dan terjadi proses pembusukan, pembentukan adiposera, mumifikasi, atau skeletonisasi.[3]

Dekomposisi merupakan fase PMI akhir yang didefinisikan sebagai proses dimana jaringan lunak tubuh terurai, sehingga terjadi skeletonisasi.[1] Terdapat 5 fase dekomposisi tubuh menurut Payne yang dapat dilihat perubahannya melalui tampilan fisik, yaitu fase segar (*fresh*), bengkak (*bloat*), pembusukan aktif (*active decay*), pembusukan tahap lanjut (*advanced decay*), dan perubahan skeletonisasi. Fase segar dimulai saat terjadi kematian dan berlanjut hingga terjadi pembengkakan mayat. Fase pembengkakan terjadi karena aktivitas metabolik mikroorganisme yang menghasilkan produk mengandung gas, sehingga daging mayat menggembung/ inflasi. Proses pembusukan aktif terjadi ketika tubuh mayat mengalami dekomposisi secara cepat karena aktivitas serangga. Pembusukan tahap lanjut dicirikan dengan adanya penurunan aktivitas serangga/ entomologis karena sumber daya sudah dikonsumsi dan daging mayat telah mengalami likuifaksi. Bagian yang tersisa adalah kulit dan rambut yang mengering, serta tulang yang masih berada pada fase 0 skeletonisasi.[3-5] Akibat dekomposisi, material mayat akan berpindah ke tanah sekitar ketika serangga dan mikroba mendominasi proses dekomposisi. Area tanah di sekitar mayat ini disebut dengan pulau dekomposisi kadaver (*cadaver decomposition island/CDI*), yang dicirikan dengan adanya perubahan biologis dan kimia tanah.[5]

Dekomposisi bakteri berperan penting dalam menentukan waktu kematian atau PMI dan memiliki pengaruh signifikan terhadap investigasi forensik. Selain serangga/entomologi untuk menentukan PMI, perubahan bakteri pada saat proses dekomposisi juga sudah dipelajari, namun masih sedikit.[6]

Ilustrasi Kasus

Sesosok jenazah laki-laki, tanpa identitas berusia sekitar 40-50 tahun, dikirim oleh Kepolisian Sektor Senen dan diterima di ruang pemeriksaan Departemen Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal FKUI/RSCM. Jenazah merupakan penghuni salah satu apartemen di daerah Jakarta Pusat. Kematian diduga akibat sakit. Kepala Polsek Cengkareng mengirimkan surat permintaan pemeriksaan luar dan dalam, serta pembuatan visum et repertum mayat.

Dari hasil pemeriksaan luar, diketahui jenazah, dengan warna kulit kuning langsung, gizi baik, tinggi 160 cm, berat tubuh 55 kg, bergolongan darah AB, ditemukan adanya tanda-tanda pembusukan lanjut. Namun, tidak ditemukan adanya tempayak. Tidak terdapat lebam mayat dan kaku mayat sudah tidak dapat dinilai karena mayat membusuk.

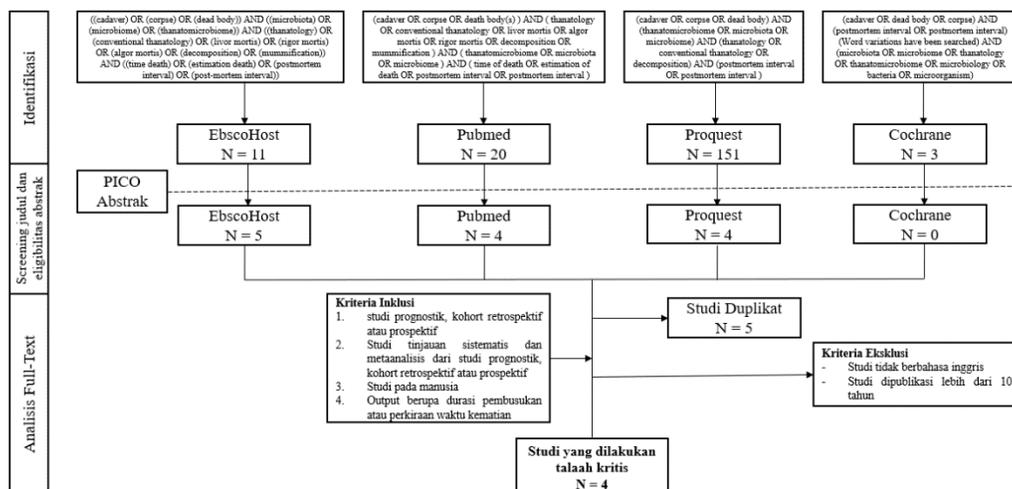
Dokter forensik kesulitan untuk menentukan perkiraan saat kematian secara pasti karena rentang waktunya terlalu lebar. Sementara itu, penyidik terus menerus meminta dokter untuk menentukan waktu pasti kematiannya karena ada dugaan jenazah tersebut meninggal tidak wajar. Sebab kematian masih belum dapat ditentukan karena belum dilakukan pemeriksaan bedah mayat.

Pertanyaan klinis: Pada mayat yang telah meninggal dalam interval waktu tertentu setelah saat kematian, apakah terdapat perubahan mikrobiom?

METODE

Metode Penelusuran

Pencarian dilakukan dari 12 Januari 2021 hingga 13 Januari 2021 menggunakan database *PubMed*, *EbscoHost*, *Proquest*, dan *Cochrane*. Kata kunci yang digunakan adalah *corpse/cadaver*, *thanatology*, *microbiome*, dan *postmortem interval*. Desain studi yang dipilih antara lain *meta-analysis/ systematic review* dari studi kohort, studi kohort retrospektif, studi kohort prospektif, studi kasus-kontrol, studi potong lintang. Studi pada manusia, dengan luaran berupa durasi pembusukan atau perkiraan waktu kematian diperoleh 185 artikel. Setelah dilakukan telaah judul dan abstrak diperoleh 13 artikel yang relevan. Kemudian dilakukan skrining duplikasi dan diseleksi dengan kriteria eksklusi artikel selain berbahasa Inggris dan lebih dari 10 tahun, sehingga dipilihlah 4 artikel yang akan dibahas (**gambar 1**).



Gambar 1. Flowchart penelusuran dan seleksi artikel.

Tabel 1. Ringkasan studi kohort dan potong lintang.

N o	Studi	Populas i	Kelompok Intervensi	Kelompok Kontrol	Jenis Studi	Luaran	Tingkat Bukti
1	Adserias-Garri Garri J, <i>et al</i> (2017 a)	3 tubuh mayat (1 laki- laki dan 2 peremp- uan)	Mayat diletakkan di ranah dan diambil swab oral setiap hari selama tahapan dekomposisi 12 hari. Lalu dilakukan ekstraksi gen 16s rRNA dari DNA bakteri.	Tidak ada	Studi Kohort Prospe- ktif	Korelasi antara tahapan dan durasi dekomposisi berdasarkan Klasifikasi Payne terhadap temuan bakteri.	3

2	Adserias-Garriaga J, <i>et al</i> (2017b)	3 tubuh mayat (1 laki-laki dan 2 perempuan)	Mayat diletakkan di tanah dan sampel tanah di sekitar kadaver yang diperiksa mulai dari tahap peletakan mayat hingga fase akhir dekomposisi. Dilakukan ekstraksi DNA pada sampel dan dianalisis dengan <i>software</i> bioinformatika FastQC	Sampel tanah yang berada jauh/satu meter dari kadaver	Studi Kohort Prospektif	Korelasi antara pertumbuhan bakteri dengan durasi dan tahapan dekomposisi	3
3	Hurtdo JC, <i>et al</i> (2018)	282 tubuh mayat	CDA (<i>Complete Diagnostic Autopsy</i>) dan MIA (<i>Minimally Invasive Autopsy</i>) kemudian dilakukan tes molekular dan tes mikrobiologis	Tidak ada	Studi Potong Lintang	Perbandingan jumlah bakteri dengan perkiraan saat kematian dan perbandingan nilai p terhadap diagnosis CDA dan MIA	4

Tabel 2. Ringkasan studi *systematic review*.

No	Penulis	Bentuk Studi	Kriteria Inklusi Studi	Jenis Studi dinilai	Jumlah Studi Dinilai	Tingkat Bukti
1	Ventura, <i>et al</i> (2018)	<i>Systematic review</i>	<ul style="list-style-type: none"> Berbahasa Inggris Abstrak dan judul sesuai dengan “evaluasi interpretasi dari kultur mikroba post-mortem dan pengaplikasiannya dengan determinasi interval post-mortem) Publikasi dalam 10 tahun kebelakang (1997-2017) 	<ul style="list-style-type: none"> Review Studi Prospektif Studi Restrospektif 	19 studi	1

Artikel yang dibahas dilakukan telaah kritis terhadap tiga aspek, yaitu aspek validitas studi (*validity*), aspek kesesuaian studi dengan pertanyaan klinis yang diajukan (*relevance*), aspek tingkat pentingnya hasil studi (*importance*), dan aspek kemampuan model terapi dan hasil seperti pada setiap studi untuk diterapkan (*applicability*). Telaah kritis dilakukan menggunakan sistem penilaian dari *University of Oxford Centre for Evidence-based Medicine critical appraisal worksheet for Prognostic Study and Systematic Review (Oxford CEBM critical appraisal sheet)*. [7]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ringkasan empat artikel yang terpilih beserta luarannya dapat dilihat pada **tabel 1** dan **tabel 2**.

1. Pengambilan Sampel Mikrobiom

Berdasarkan studi Adserias-Garriga *et al.* (2017a), salah satu metode untuk mengambil sampel mikrobiom adalah menggunakan swab oral. Swab oral dilakukan setiap hari pada setiap tahapan penguraian yang berbeda. Mulai dari saat kematian hingga terjadinya proses skeletonisasi. Regio oral yang diswab meliputi palatum, lidah, mukosa bukal, dan permukaan gigi. Setiap prosedur swab juga dilakukan sebanyak dua kali (*double swab*).[8]

Swab pertama dilakukan dengan merendam alat swab dalam air steril, lalu digulirkan pada permukaan sampel dengan tekanan sedang dan gerakan memutar, lalu dikeringkan di udara. Sementara swab kedua tidak direndam dulu, melainkan langsung digulirkan pada permukaan sampel dengan tekanan sedang dan gerakan memutar untuk menyerap sisa-sisa air dari swab pertama, lalu dikeringkan di udara. Selanjutnya, kedua hasil swab diletakkan bersama dalam satu wadah. Di dalam wadah tersebut, proses pengeringan sampel terus berlanjut dan kemudian disimpan dalam pendingin bersuhu -20°C sebelum dilakukan ekstraksi DNA.[8]

Penggunaan sampel dari swab oral menunjukkan bahwa meskipun terdapat perbedaan kondisi gigi pada subjek, ternyata tetap memberikan hasil yang baik dalam menentukan bakteri yang terlibat dalam setiap tahapan dekomposisinya.[8] Pada studi lain yang dilakukan juga oleh Adserias-Garriga *et al.* (2017b), digunakan sampel berbeda, yaitu memakai tanah sebanyak satu gram diambil pada kedalaman 0-5 cm di sekitar area kepala, perut, dan kaki mayat. Sampel lalu disimpan dalam wadah bersuhu -20°C hingga dilakukan ekstraksi DNA.[9]

Pada studi Hurtado JC *et al.* (2018) dilakukan perbandingan antara MIA (*Minimally Invasive Autopsy*) dengan standar referensi bakunya, yaitu CDA (*Complete Diagnostic Autopsy*). Namun, pada studi ini, penulis akan mengangkat aspek dari kaitan PMI (*post mortem interval*) dengan perubahan bakteri pada metode MIA dan CDA. Autopsi ini dilakukan pada dua waktu, yaitu <24 jam (dengan rentang waktu 4 - 24 jam) dan >24 jam (rentang waktu 24 - 60 jam). Sampel histopatologis dan sampel mikrobiologis diambil dengan metode yang sama. Pemeriksaan histopatologis dilakukan dengan melakukan pewarnaan hematoxilin dan eosin serta pemeriksaan histokimia dan atau imunohistokimia tambahan untuk keperluan mencari diagnosis.[10]

Sementara itu, pemeriksaan mikrobiologis dilakukan dengan cara kultur konvensional dan tes molekuler. Sampel untuk pemeriksaan mikrobiologis diambil dari cairan tubuh, jaringan dari seluruh organ, dan darah. Darah diambil, diinokulasi untuk kultur dengan sistem BACTEC, dan dilakukan pewarnaan gram dan dikultur. Sementara itu, sampel cairan serebrospinal dikultur ke darah, agar coklat, dan agar MacConkey. Sementara itu, jaringan dari sistem saraf pusat, liver, paru, dan uterus, diinokulasikan ke tabung yang mengandung tioglikolat dan diinkubasi pada suhu 37°C . Jika ada tanda pertumbuhan bakteri maka kemudian dilakukan pewarnaan Gram dan kultur dengan agar yang sesuai.[10]

2. Pengolahan Sampel Mikrobiom

Sampel yang telah diambil dan disimpan akan diolah dengan cara mengekstraksi DNA bakteri. Pada studi Adserias-Garriga *et al.* (2017a), ekstraksi DNA akan menghasilkan gen 16s rRNA yang memang rutin dan terstandarisasi untuk mengamati filogeni/ taksonomi.[8]

Pada studi oleh Hartudo JC *et al.* (2018), pemeriksaan mikrobiologis diamati morfologisnya menggunakan mikroskop. Sementara pada metode molekular, analisisnya dilakukan pada cairan tubuh dan jaringan. Digunakan sistem semi-otomatis (Qiagen, Qiacube) untuk mengekstraksi asam nukleat (DNA + RNA). Sementara itu, PCR general (16S rRNA PCR dan 18S rRNA-ITS PCR) dan PCR spesifik (untuk Toksplasma, Miko-bakterium, dan Plasmodium) juga dilakukan. Analisis dilakukan menggunakan metode Sanger dan identifikasi patogen dilakukan dengan membandingkan GenBank menggunakan algoritma BLAST untuk mengetahui patogen yang ada.[10]

3. Asosiasi Jenis Mikrobiom dan Penentuan Saat Kematian

Dari hasil studi Adserias-Garriga *et al.* (2017a) diperoleh hasil adanya keterkaitan filum (*phyla*) dan famili bakteri yang diperoleh dari swab oral terhadap tahapan-tahapan dekomposisi berdasarkan klasifikasi Payne. Pada *fresh stage*, terjadi sekitar hari ke-1 hingga ke-5, didominasi dengan kehadiran filum Firmicutes dan Actinobacteria.[8]

Pada *bloat stage*, terjadi sekitar hari ke-5 hingga ke-7, dominasi filum Firmicutes dan Actinobacteria semakin berkurang dan digantikan oleh filum Tenericutes. Uniknya, Tenericutes terlihat selalu hadir pada *bloating stage*. Sehingga dapat dijadikan identifikasi tahap *bloating stage* yang sulit dinilai secara visual atau fisik. Sementara jika berdasarkan famili, terdapat Peptostreptococcaceae dan Bacteroidaceae yang merupakan bakteri asli oral, serta Enterococcaceae yang merupakan bakteri asli usus. Pada akhir *bloating stage*, akan dijumpai Clostridiales yang hadir pada kondisi minim oksigen. Pada tahapan ini juga terdapat peningkatan Ignatzschineria, yang dihubungkan dengan proses myasis dari lalat famili Sarcophagidae.[8]

Pada *active decay* dan *advanced decay*, yang berlangsung sekitar hari ke-6 hingga hari ke-12, kehadiran filum Firmicutes kembali meningkat. Namun, karakteristik filum pada tahapan ini berbeda dengan tahapan *fresh stage*. Filotipe yang lebih dominan di tahap ini adalah Clostridiales dan Bacillaceae, yang dominasinya semakin meningkat seiring perubahan ke tahapan *advanced decay*. Pada tahap akhir dekomposisi, yaitu *dry remains* lebih dikarakterisasi dengan ditemukannya Bacilli dan Clostridia.[8]

Hasil studi yang dilakukan oleh Adserias-Garriga *et al.* (2017b), menunjukkan hasil bahwa pemeriksaan tanatomikrobiom yang dilakukan terhadap sampel tanah pada regio tubuh mayat dapat digunakan untuk memprediksi interval post mortem. Studi ini menunjukkan bahwa tanatomikrobiom pada perubahan tanah memiliki potensi yang berguna dalam menyelesaikan kasus forensik melalui pendekatan kuantitatif dan objektif untuk mengestimasi PMI dari aspek rasional ekologis.[9]

Dari analisis studi juga didapatkan bahwa ketiga mayat mengalami rangkaian fase dekomposisi yang sama, kecuali dua mayat lainnya (tidak mengalami fase *bloating*) dengan variasi 2 hari. Perubahan makroskopik dan fase dekomposisi tersebut digunakan oleh penulis untuk

memprediksi PMI. Selain itu, pertumbuhan Firmicutes dapat juga digunakan untuk estimasi PMI dalam kondisi musim panas di Tenesia. Firmicutes akan bertumbuh secara cepat dan drastis pada *bloat stage* hingga ke pembusukan lebih lanjut.[9]

Berdasarkan hasil studi yang dilakukan, mikroorganisme Firmicutes berperan penting dalam proses dekomposisi. Filum dari mikroba ini akan menduduki tanah pada saat waktu tertentu proses dekomposisi, yaitu pada fase *bloat* ataupun pada fase pembusukan aktif (*active decay*). Peristiwa ini terjadi bersamaan pada titik tertentu, yaitu hari ke-6 hingga ke-7 pada ketiga kadaver. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah mikroba Firmicutes, maka menunjukkan bahwa PMI atau waktu kematiannya semakin lama. Hal ini disebabkan karena peralihan dari fase bloat ke fase dekomposisi lanjut dan fase tetap kering (*dry remains*). Akan tetapi, hal ini tetap perlu dipastikan melalui studi yang melibatkan jumlah kadaver lebih banyak.[9]

Pada studi oleh Hurtado JC *et al.* (2018), didapatkan hasil bahwa peningkatan PMI diasosiasikan dengan peningkatan kontaminan di metode kultur konvensional dan tes molekuler. Mikroorganisme yang diasosiasikan sebagai infeksi murni, mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya PMI pada metode kultur konvensional. Asosiasi ini diamati pada sampel cairan serebrospinal, otak, paru, dan uterus. Selain itu, hanya bakteri yang meningkat seiring dengan peningkatan PMI, sementara fungi dan parasit berkurang pada PMI >12 jam. Analisis dari berbagai famili bakteri menyatakan, bahwa PMI yang panjang diasosiasikan dengan peningkatan identifikasi Enterobacteriaceae dan Pseudomonas, utamanya melalui tes molekuler. Namun, peningkatan kedua genus bakteri ini dipengaruhi oleh bakteri penyebab kematian pada mayat dan waktu autopsi yang dilakukan >24 jam. Peningkatan bakteri secara umum memiliki kecepatan 1,014 per jam (95%CI: 1,002-1,026).[10]

Jenis-jenis mikrobiom yang berkembang pada tiap tahapan dekomposisi beserta durasi PMI-nya telah dirangkum dalam **tabel 3**.

Tabel 3. Rangkuman jenis mikrobiom terhadap waktu dan tahap dekomposisi.

Studi	Stage of Decomposition				
	Fresh	Bloat	Active Decay	Advanced Decay	Putrid Dry Remains
Adserias-Garriga J, et al (2017a)	1-5 hari	5-7 hari	6-9 hari	9-12 hari	>12 hari
Filum	1. Firmicutes 2. Actinobacteria	Tenericutes	Firmicutes yang berbeda 1. Clostridiales 2. Bacillaceae		
Famili	Lactobacillaceae, Staphylococcaceae, Gemellaceae, Carnobacteriaceae, Aerococcaceae, Veillonellaceae, Streptococcaceae, Campylobacteraceae, Micrococcaceae, Bifidobacteriaceae, Actinomycetaceae, Corynebacteriaceae	1. Peptostreptococcae 2. Bacteroidaceae 3. Enterococcae 4. Clostridiales 5. Ignatzschineria	1. Gammaproteobacteria 2. Pseudomonadaceae 3. Alcaligenaceae 4. Planococcaceae		1. Bacilli 2. Clostridia
Adserias- Garriga J, et al (2017b)					
Filum	Kadar tinggi; Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes Kadar lebih rendah; Actinobacteria, Verrucomicrobia, Planctomycetes, Chloroflexi, Nitrospirae, Gemmatimonadetes, Crenarchaeota.	Peningkatan Firmicutes dan Actinobacteria, penurunan Proteobacteria	Bacillaceae, Enterococcaceae, Streptococcaceae, Veillonellaceae, Pseudomonaceae dan Moraxellaceae		Clostridiales dan Bacilli
Hurtado JC, et al (2018)	< 24 jam (4-24 jam) >24 jam (24-60 jam)	N/A	N/A	N/A	N/A
Genus	1. Enterobacteriaceae 2. Pseudomonas spp.	N/A	N/A	N/A	N/A
Ventura, et al	29,5 - 66 jam	N/A	N/A		> 10 hari

(2018)				
Genus	1. Lactobacilla	N/A	N/A	1. Clostridium haemolyticum,
	2. Veillonella			2. Clostridium botulinum
	3. Prevotella			3. Clostridium novyi
	4. Streptococcus			4. Escherichia coli
	5. Gemella			5. Escherichia albertii
Kelompok	Anaerob Fakultatif			Anaerob Obligat

4. Faktor yang Mempengaruhi Perubahan Pola Kolonisasi Mikrobiom

Perubahan filum maupun famili bakteri yang berkolonisasi pada berbagai tahapan dekomposisi dapat dikaitkan dengan kadar oksigen. Pada tahap awal dekomposisi, kadar oksigen masih tinggi sehingga kolonisasi didominasi oleh bakteri yang melakukan metabolisme secara aerob. Seiring dekomposisi terus berlanjut, maka oksigen mulai menurun dan peran dekomposisi digantikan oleh bakteri anaerob.[8]

Studi Adserias-Garriga *et al.* (2017a) mendukung bahwa tanatomikrobiom memiliki tempat dalam ilmu kedokteran forensik sebagai langkah memperkirakan saat kematian secara kuantitatif dan objektif. Studi ini juga menunjukkan bahwa hasil swab oral dapat digunakan sebagai sumber pengambilan sampel mikrobiom yang representatif. Bahkan, studi ini juga berupaya memperlihatkan dua variabel yang berkaitan dalam perkembangan ilmu tanato-mikrobiom, yaitu tahapan dekomposisi dan ketersediaan oksigen terhadap perubahan pola kolonisasi bakteri.[8]

Studi Hurtado JC *et al.* (2018) mendukung bahwa melalui tes mikrobiologis terhadap bakteri, PMI bisa lebih diperkirakan dengan tepat. Peningkatan PMI diasosiasikan dengan peningkatan *Pseudomonas* spp. pada teknik molekular. Sementara itu, kultur konvensional mungkin akan susah mendeteksi bakteri ini, karena jumlah bakteri yang translokasi sedikit dan hanya bisa terdeteksi dengan tes molekular. Kemudian, penempatan mayat pada lemari es sebelum dilakukan autopsi juga dinilai perlu dilakukan jika ingin menganalisis bakteri pada mayat.[10]

Studi yang dilakukan Ventura *et al.* (2018) mengumpulkan studi-studi yang mengasosiasikan antara penyebab kematian, estimasi waktu kematian, dan kolonisasi bakteri spesifik. Studi yang dibahas antara lain Can *et al.* (2014), yang membahas tentang asosiasi PMI dengan beberapa bakteri yang muncul pada jam tertentu. Selain itu, pada Javan *et al.* (2016) juga mendukung temuan dari Can *et al.* (2014) bahwa spesies yang tumbuh *overlap* dari dua studi ini. Temuan lain yang perlu dilihat adalah bahwa tahap awal dekomposisi sering ditemukan bakteri yang anaerob fakultatif, menandakan masih bisa hidup jika terpapar oksigen, seperti *Lactobacilla*. Semakin mendekati tahap akhir dekomposisi, muncul bakteri anaerob yang lebih dominan, seperti *Clostridium*. [11]

KESIMPULAN

Sampel mikrobiom dari mayat dapat digunakan sebagai cara menentukan saat kematian

secara kuantitatif dan objektif. Terdapat karakteristik khas kolonisasi bakteri dalam setiap tahapan dekomposisi. Perubahan kolonisasi tersebut dikaitkan dengan perubahan kadar oksigen sehingga mempengaruhi jenis bakteri yang dominan berkembang.

Banyak metode atau teknik untuk memperoleh sampel mikrobiom. Mulai dari swab oral, pengambilan dari tanah di lingkungan mayat, dan pemeriksaan kultur konvensional. Namun, belum ada perbandingan langsung terkait efektivitas antara metode-metode tersebut. Selain itu, penggunaan ekstraksi DNA bakteri untuk memperoleh gen 16s rRNA terlihat cukup representatif untuk memetakan filum maupun famili kolonisasi bakteri yang ditemukan pada mayat. Dibutuhkan pengembangan lebih lanjut dalam teknik pengambilan sampel dan metode pembacaan hasil ekstraksi DNA.

Salah satunya adalah dengan memanfaatkan kecerdasan artifisial (*artificial intelligence*) yang dikombinasikan dengan *machine learning*. Sehingga pembacaan data dapat objektif dan hasil akhirnya dapat diperoleh dalam waktu yang lebih cepat.

Rekomendasi lain adalah perlunya dilakukan penelitian yang mengkuantifikasi secara pasti jumlah bakteri, sehingga didapatkan nilai ambang batas untuk masing-masing bakteri. Penelitian yang ada sejauh ini baru membuktikan kenaikan jumlah bakteri saja tanpa memperhitungkan nilai minimal untuk diagnostik perkiraan waktu kematian secara pasti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLOS Biol.* 2016;14(8):1-14.
2. Willis JR, Gabaldon T. Review: the human oral microbiome in health and disease: from sequences to ecosystems. *Microorganisms.* 2020;8(308):1-28.
3. Shreshta R, Kanchan T, Krishan K. Methods of estimation of time since death. [Updated 2020 Apr 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan.
4. Zhou W, Bian Y. Thanatomiocriome composition profiling as a tool for forensic investigation. *Forensic Sci Res.* 2018;3(2):105-110.
5. Woydt L, Bernhard M, Kirsten H, et al. Intra-individual alterations of serum markers routinely used in forensic pathology depending on increasing post-mortem interval. *Sci Rep.* 2018;8(1):12811
6. Singh B, Minick KJ, Strickland MS, et al. Temporal and Spatial Impact of Human Cadaver Decomposition on Soil Bacterial and Arthropod Community Structure and Function. *Front Microbiol.* 2018;8:2616.
7. Oxford Centre of Evidence-Based Medicine. Critical appraisal tools. Cited 23 Jan 2021. Available from: <https://www.cebm.ox.ac.uk/resources/ebm-tools/critical-appraisal-tools>
8. Adserias-Garriga J, Quijada NM, Hernandez M, Rodríguez Lázaro D, Steadman D, Garcia-Gil LJ. Dynamics of the oral microbiota as a tool to estimate time since death. *Mol Oral Microbiol.* 2017;32(6):511-516.
9. Adserias-Garriga J, Hernández M, Quijada NM, Rodríguez Lázaro D, Steadman D, Garcia-Gil J. Daily thanatomiocriome changes in soil as an approach of postmortem interval estimation: An ecological perspective. *Forensic Sci Int.* 2017;278:388-395.

- 10 Hurtado JC, Quintó L, Castillo P, Carrilho C, Fernandes F, Jordao D, et al. Postmortem Interval and diagnostic performance of the autopsy Methods. *Sci Rep.* 2018;8(16112);1-10.
- 11 Ventura Spagnolo E, Stassi C, Mondello C, Zerbo S, Milone L, Argo A. Forensic microbiology applications: A systematic review. *Leg Med (Tokyo).* 2019;36:73-80.