

# Perubahan kadar hemoglobin postmortem pada tikus putih galur Sprague-Dawley

Beta Ahlam Gizela  
Bagian Ilmu Kedokteran Kehakiman  
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada  
Yogyakarta

## ABSTRACT

Beta Ahlam Gizela - *Postmortem hemoglobin concentration changing in Sprague-Dawley white mouse*

**Background:** *Postmortem* changes in a death body have a lot of purposes, one of them is predicting the time of death. The common method used to predict the time of death is by detecting hypostasis, rigidity, decreasing temperature, and decomposition.

**Objectives:** To find out *postmortem* hemoglobin concentration changing pattern.

**Methods:** This research is a preliminary study. We used Quasi Experimental Design. The subjects were 31 white male mice aged of two months old. The mouse blood was taken in a periodic time: *antemortem*, 0, 1, 2, and 3 hours *postmortem*, and hemoglobin concentration was examined using Sahli method.

**Results:** Data taken from this research were analyzed by regression analysis and t-test. The result showed that *postmortem* hemoglobin against time pattern was a curve. The hemoglobin concentration is significantly decreased in the first hour ( $p < 0.05$ ), and then increased 2 hours later ( $p > 0.05$ ). There was no significant difference between *antemortem* and 0 hour *postmortem* ( $p > 0.05$ ). There was a significant difference between *antemortem* and 1, 2, and 3 hours *postmortem* ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** *Postmortem* hemoglobin concentration changing pattern is a curve, not linear. The hemoglobin concentration decreased in the first hour since death (statistically significant), then, increased in the second and third hour *postmortem* (statistically not significant). There is a significant difference between *antemortem* and 1, 2, and 3 hours *postmortem*.

**Key words:** Hemoglobin concentration -post mortem changes - time of death - blood

## ABSTRAK

Beta Ahlam Gizela - *Perubahan kadar hemoglobin postmortem pada tikus putih galur Sprague-Dawley*

**Latar belakang:** Perubahan *postmortem* pada jenazah sangat berguna antara lain untuk menentukan saat kematian. Perubahan *postmortem* yang telah rutin diperiksa selama ini adalah lebam jenazah, kaku jenazah, penurunan suhu, dan pembusukan. Perubahan-perubahan yang dideteksi secara lebih objektif melalui pemeriksaan penunjang yang sederhana dan aplikatif selama ini masih belum dilakukan. Hal ini disebabkan karena temuan di bidang tersebut masih terbatas.

**Tujuan:** Penelitian yang dilakukan ini untuk memeriksa pola perubahan konsentrasi hemoglobin setelah kematian.

**Bahan dan Cara:** Penelitian ini adalah suatu penelitian pendahuluan. Penelitian ini menggunakan rancangan Quasi Eksperimental. Subjek penelitian adalah tikus putih galur Sprague-Dawley jantan usia dua bulan. Tikus putih diambil darahnya, dibunuh, lalu diambil lagi darahnya dalam rentang waktu 0, 1, 2, dan 3 jam *postmortem* untuk diperiksa kadar hemoglobinnya dengan metode Sahli.

**Hasil:** Dari penelitian yang dilakukan dicari pola hubungan antara konsentrasi hemoglobin dan saat kematian. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan t-test dan regresi linear. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa pola kadar hemoglobin *postmortem* berbentuk kurva. Terjadi penurunan yang bermakna kadar pada satu jam pertama ( $p < 0,05$ ), yang diikuti dengan peningkatan pada dua jam berikutnya ( $p > 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara *antemortem* dengan 0 jam *postmortem* ( $p > 0,05$ ). Terdapat perbedaan bermakna antara *antemortem* dengan 1, 2, dan 3 jam *postmortem* ( $p < 0,05$ ).

Simpulan: Pola perubahan kadar hemoglobin *postmortem* berbentuk kurva, bukan garis. Terjadi penurunan kadar pada jam pertama setelah kematian yang secara statistik bermakna, kemudian diikuti dengan peningkatan pada jam berikutnya (jam kedua dan ketiga), akan tetapi secara statistik peningkatannya tidak bermakna. Terdapat perbedaan bermakna antara *antemortem* dengan 1, 2, dan 3 jam *postmortem*.

(B.I.Ked. Vol. 33, No. 4: 207-212, 2001)

## PENGANTAR

Korban kasus kematian yang disebabkan oleh perilaku pelanggaran hukum, seperti kecelakaan, kriminal, atau misterius seringkali ditemukan beberapa saat setelah kematian. Guna penyidikan diperlukan perkiraan saat kematian untuk mencari tersangka pelaku pelanggaran hukum. Selama ini yang dijadikan patokan untuk menetapkan saat kematian adalah perubahan-perubahan *postmortem* yang terjadi. Pemeriksaan yang rutin dilakukan adalah pemeriksaan lebam jenazah, kaku jenazah, penurunan suhu, pembusukan, adanya alat atau cacing<sup>1</sup>.

Schuller menemukan bahwa lebam jenazah meningkat mulai jam ketiga sampai 15 jam setelah kematian. Warna lebam jenazah berubah mulai jam ketiga yaitu dari panjang gelombang 575 nm meningkat 2 nm tiap jamnya, akan tetapi muncul permasalahan karena warna dari lebam jenazah bervariasi menurut sebab kematiannya<sup>2</sup>.

Saat mulai terjadinya kaku jenazah sangat bervariasi, tetapi biasanya mulai 3 sampai 6 jam setelah kematian. Kekakuan terjadi antara lain karena peningkatan kadar asam laktat pada otot jenazah. Kekakuan ini akan menyeluruh kira-kira dalam waktu 6 sampai 12 jam. Delapan belas sampai 36 jam kemudian kekakuan ini menetap, dan kemudian mulai menghilang seiring dengan terjadinya pembusukan<sup>2</sup>.

Proses pembusukan jenazah, atau lebih tepatnya proses dekomposisi, terjadi pada rentang waktu yang sangat bervariasi, tergantung pada kondisi lingkungan, pakaian yang dikenakan, dan sterilitas jenazah. Proses ini terjadi setelah lebam jenazah dan kaku jenazah<sup>2</sup>.

Penelitian yang berhubungan dengan perubahan-perubahan *postmortem* yang banyak dilakukan adalah yang berkaitan dengan kejadian yang lama, yaitu berkisar antara beberapa bulan sampai

beberapa puluh tahun, dengan penghitungan kadar luminol dalam tulang<sup>3</sup>, kadar Strontinum 90 dalam tulang<sup>4</sup>, dan berbagai pemeriksaan antropologi<sup>5</sup>.

Untuk perubahan *postmortem* dalam interval waktu yang pendek belum banyak diteliti. Sebuah penelitian menemukan bahwa melatonin, yaitu suatu hormon pineal dapat memberi petunjuk mengenai saat kematian dengan mengukur kadar hormon dalam kelenjar pineal secara keseluruhan, sedangkan pemeriksaan kadar melatonin dalam darah dan urine memberi hasil yang tidak akurat<sup>6</sup>. Penelitian lain mengungkapkan bahwa terjadi penurunan kadar ATP dalam jaringan otak anjing secara bertahap sesuai dengan lamanya kematian<sup>7</sup>. Pada penelitian dengan hewan coba tikus putih didapatkan peningkatan fragilitas osmotik eritrosit seiring dengan lamanya kematian<sup>8</sup>.

Dari telaah kepustakaan yang dilakukan diperoleh data-data perubahan *postmortem* yang meliputi perubahan biokimiawi antara lain perubahan pH darah. Penurunan pH darah terjadi setelah kematian karena akumulasi CO<sub>2</sub>, glikogenolisis, glikolisis, asam laktat, fosfor, dan pemecahan asam amino dan asam lemak. Setelah 24 jam darah berubah menjadi alkalis karena terbentuknya amonia yang berasal dari pemecahan enzimatis protein. Peristiwa ini juga akan meningkatkan konsentrasi non-protein-nitrogen serum 50 mg per dl untuk 12 jam pertama<sup>1,9</sup>.

Selain itu juga terjadi penurunan konsentrasi klorida serum dari 74 mmol per liter menjadi separuhnya dalam 72 jam. Konsentrasi magnesium serum akan meningkat pada saat mulai terjadi proses pembusukan, dan menjadi delapan kali lipat dalam 72 jam. Konsentrasi kalium juga mengalami peningkatan karena adanya difusi lewat endotel pembuluh darah<sup>9</sup>.

Konsentrasi ureum dalam darah mengalami peningkatan karena proses proteolisis, sedangkan konsentrasi gula darah akan segera menurun dengan cepat. Konsentrasi dekstrosa dalam vena

cava inferior mengalami kenaikan karena proses pemecahan glikogen dalam hati. Kenaikan konsentrasi dekstrosa ini dapat merembes ke jantung kanan, tetapi tidak ke tempat lain karena paru-paru merupakan barier terbaik untuk perembesan<sup>1</sup>.

Pada kondisi *antemortem*, hemoglobin yang berada dalam eritrosit mempunyai kemampuan untuk berinteraksi dengan oksigen, hidrogen, CO<sub>2</sub>, dan 2,3-DPG<sup>10,11</sup>. Tiap satu molekul hemoglobin terdiri dari dua pasang rantai peptid. Tiap rantai mengandung satu molekul haem yang mampu berikatan dengan satu molekul oksigen<sup>12,11</sup>.

Setelah kematian terjadi fragilitas eritrosit yang lebih tinggi dibandingkan sebelum kematian<sup>8</sup>. Hal ini dapat menjelaskan mengapa pada sekitar delapan jam setelah kematian lebam jenazah yang terbentuk menjadi menetap. Keadaan ini disebabkan karena warna merah yang terbentuk dari penumpukan haem sudah berada di ekstrasvaskular. Selain itu juga mulai terjadi kerusakan dinding pembuluh darah<sup>2</sup>. Dari dua fenomena di atas, adanya peningkatan fragilitas eritrosit dan kerusakan dinding pembuluh darah setelah kematian, dimungkinkan terjadinya perubahan konsentrasi hemoglobin setelah kematian.

Dari telaah pustaka di atas, tampak bahwa pemeriksaan penunjang yang dikembangkan untuk mendeteksi perubahan *postmortem* masih belum banyak dilakukan. Atas dasar pemikiran tersebut dilakukan penelitian guna mendapatkan data perubahan *postmortem* yang sifatnya lebih objektif dengan pemeriksaan penunjang, antara lain dengan melihat pola konsentrasi hemoglobin dalam darah. Sejauh penelusuran kepustakaan yang telah dilakukan, baik dari buku-buku teks maupun dari CD-ROM, belum pernah dilakukan penelitian tentang kadar hemoglobin *postmortem* pada manusia maupun hewan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengalami konsentrasi hemoglobin *postmortem* serta dicari pola hubungannya dengan saat kematian.

## BAHAN DAN CARA

Penelitian ini menggunakan bahan hidup tikus putih galur Sprague-Dawley (SD) jantan usia dua bulan. Spesimen yang diperiksa adalah darah. Dipilihnya tikus putih galur Sprague-Dawley karena

binatang ini memiliki sifat eritrosit yang mirip dengan manusia. Dari penelitian terdahulu diperoleh rerata tingkat fragilitas osmotik eritrositnya sebesar 0,3%<sup>8</sup>.

Bahan kimia yang dipergunakan adalah reagen pemeriksaan hemoglobin dengan metode Sahli, yaitu HCl 0,1N. Dipilihnya metode ini karena alat dan prosedur pemeriksaan yang sederhana sehingga dapat diaplikasikan dengan mudah dilapangan.

Rancangan penelitian yang dipilih adalah Quasi Eksperimental. Jumlah sampel 31 ekor.

Penelitian dilakukan dengan mengambil darah tikus putih dari jantung pada beberapa interval waktu yaitu pada saat masih hidup, pada saat baru dibunuh (jam ke-0), dan tiga kali pengambilan berikutnya dengan interval waktu satu jam. Untuk mempermudah pengambilan, darah diambil dari jantung. Pengambilan darah ini masih dimungkinkan karena setelah mati, darah yang berada dalam tubuh tidak akan menjendal karena habisnya fibrinogen dan kalsium dalam darah serta adanya pacuan kelenjar adrenal pada saat menjelang kematian yang mengakibatkan aktivitas fibrinolitik darah meningkat<sup>13</sup>. Pada beberapa penelitian juga terungkap bahwa setelah kematian terjadi peningkatan fibrinolisin yang menghambat koagulasi<sup>2</sup>. Pada beberapa penelitian pengambilan darah setelah kematian masih memungkinkan dalam jangka waktu yang cukup lama, selama darah masih ada dalam rongga jantung dan pembuluh darah.

Tikus dibunuh dengan cara luksasi vertebra servikal. Cara ini dipilih untuk mendapatkan kondisi yang mirip dengan mayoritas sebab kematian yang dijumpai di lapangan. Darah yang diambil diberi antikoagulan heparin dan diperiksa kadar hemoglobinnya.

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik regresi untuk melihat pola kadar hemoglobin *postmortem*.

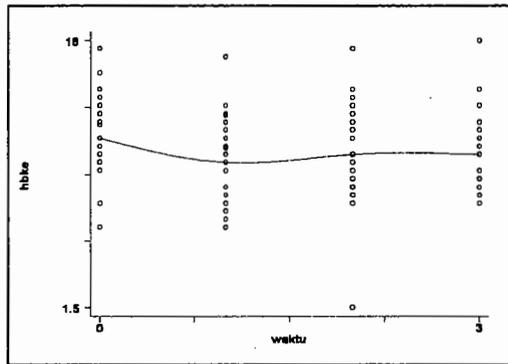
## HASIL PENELITIAN

Dari 31 subjek penelitian didapat 155 kasus, masing-masing 31 kasus untuk *antemortem*, *postmortem* jam ke-0, 1, 2, dan 3. Pada TABEL 1 ditampilkan rerata kadar hemoglobin pada tiap interval waktu pemeriksaan.

TABEL 1. Rerata kadar hemoglobin tikus putih galur Sprague-Dawley dengan menggunakan Metode Sahli

Waktu	Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
Antemortem	31	12,32258	± 2,177297
0 jam Postmortem	31	12,36452	± 2,336457
1 jam Postmortem	31	10,54194	± 2,578213
2 jam Postmortem	31	11,19355	± 2,943007
3 jam Postmortem	31	11,30645	± 2,322633

Dari *scatter plot* tampak gambaran berupa kurva sebagaimana ditampilkan pada GAMBAR 1.



GAMBAR 1. Grafik kadar hemoglobin *postmortem*.

Dari analisis t-test kadar hemoglobin pada masing-masing rentang waktu terhadap kadar hemoglobin *antemortem* (TABEL 2) diperoleh hasil bahwa kadar hemoglobin antara *antemortem* dan 0 jam *postmortem* tidak ada perbedaan bermakna, sedangkan kadar hemoglobin antara *antemortem* dengan satu jam *postmortem*, dua jam *postmortem*, dan tiga jam *postmortem* terdapat perbedaan bermakna.

Dari analisis statistik regresi linear (TABEL 3) didapatkan bahwa setiap kenaikan waktu satu

jam terjadi penurunan kadar hemoglobin sebesar 0,252 g%, walaupun secara statistik tidak bermakna ( $p > 0,05$ ). Hal ini bisa dijelaskan sehubungan dengan gambar *scatter plot* di muka, bahwa grafik yang terbentuk tidak berupa garis, tetapi berupa kurva.

Bila dilakukan analisis regresi lebih lanjut dengan memperhatikan gambar *scatter plot*, dipisahkan antara bagian kurva yang mengalami penurunan dan

TABEL 2. Hasil uji t-test kadar hemoglobin pada tiap interval waktu

Variabel	Observasi	Rerata	SD	p
Hb antemortem	31	12,32258	± 2,177297	0,8776
Hb 0 jam postmortem	31	12,36452	± 2,336457	
Hb antemortem	31	12,32258	± 2,177297	0,0002
Hb 1 jam postmortem	31	10,54194	± 2,578213	
Hb antemortem	31	12,32258	± 2,177297	0,0095
Hb 2 jam postmortem	31	11,19355	± 2,943007	
Hb antemortem	31	12,32258	± 2,177297	0,0406
Hb 3 jam postmortem	31	11,30645	± 2,322633	

yang mengalami kenaikan. Hasil yang diperoleh (TABEL 4) adalah terdapat penurunan kadar hemoglobin 1,8 g% antara 0 jam *postmortem* dengan 1 jam *postmortem* yang secara statistik bermakna ( $p < 0,05$ ). Sedangkan, antara 1 jam *postmortem* dengan 2 jam dan 3 jam *postmortem* (TABEL 5)

TABEL 3. Analisis regresi saat kematian terhadap kadar hemoglobin

Variabel	Koefisien	SE	P	Interval Kepercayaan 95%
Konstanta	11,79	± 0,3914665	0,000	10,956 ; 12,505
Waktu	-0,252	± 0,2092476	0,230	-0,667 ; 0,162

TABEL 4. Analisis regresi saat kematian jam ke-0 dan ke-1 terhadap kadar hemoglobin

Variabel	Koefisien	SE	P	Interval Kepercayaan 95%
Konstanta	12,36452	± 0,44188	0,000	11,48062 ; 13,24842
Waktu	-1,822581	± 0,62492	0,005	-3,07260 ; -0,57256

TABEL 5. Analisis regresi saat kematian jam ke-1, 2, 3 terhadap kadar hemoglobin

Variabel	Koefisien	SE	P	Interval Kepercayaan 95%
Konstanta	10,24946	± 0,71761	0,000	8,824017 ; 11,67491
Waktu	0,3822581	± 0,33219	0,253	-0,27759 ; 1,042111

terdapat peningkatan kadar hemoglobin 0,38 g% tiap satu jam, secara statistik tidak bermakna ( $p > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada tikus putih galur Sprague-Dawley menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara *antemortem* dengan 0 jam *postmortem*. Hal ini dapat dijelaskan karena singkatnya waktu antara keduanya, sehingga dimungkinkan proses-proses yang berpengaruh belum banyak terjadi.

Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa pada keadaan *postmortem* terjadi peningkatan fragilitas osmotik eritrosit<sup>8</sup>. Peningkatan fragilitas osmotik eritrosit ini terjadi karena peningkatan kadar asam laktat dan penurunan kadar ATP dalam darah<sup>14,15</sup>. Selain itu pada kondisi *postmortem* terjadi peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan aktivitas enzim destruktif<sup>2,9</sup>.

Pada kondisi selanjutnya, kadar hemoglobin antara *antemortem* secara statistik berbeda bermakna dengan kadar pada 1 jam, 2 jam, dan 3 jam *postmortem*. Dari telaah kepustakaan maupun penelusuran hasil penelitian yang telah dilakukan belum didapatkan penjelasan yang memuaskan mengenai hal-hal yang berpengaruh pada perubahan-perubahan ini. Akan tetapi penjelasan di muka mengenai perubahan-perubahan *postmortem* mungkin dapat membantu.

Dari hasil penelitian didapatkan pola kadar hemoglobin *postmortem* yang berbentuk kurva. Pada awal kematian, antara saat kematian (0 jam *postmortem*) sampai 1 jam *postmortem* terjadi penurunan kadar hemoglobin. Kondisi ini tidak berlangsung lama karena kemudian kadar hemoglobin mengalami peningkatan. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan peningkatan permeabilitas endotel dan fragilitas eritrosit yang meningkat setelah kematian<sup>9,8</sup>.

Fragilitas osmotik eritrosit *postmortem* meningkat sejak awal kematian (mulai jam pertama *postmortem*)<sup>8</sup>, sehingga sebagian eritrosit yang mengalami lisis menjadikan hemoglobin berada di dalam plasma secara bebas. Seiring dengan hal itu terjadi difusi melalui endotel<sup>9</sup>, sehingga plasma darah sebagian masuk ke jaringan dengan membawa serta hemoglobin yang berada di luar eritrosit.

Pada proses selanjutnya terjadi peningkatan kadar hemoglobin yang mungkin disebabkan dengan makin banyaknya cairan dalam darah yang keluar ke jaringan karena proses destruksi *postmortem* pada endotel, yang tidak diikuti oleh keluarnya eritrosit, sehingga terjadi kenaikan kadar hemoglobin dalam rongga jantung, walaupun secara statistik peningkatannya tidak bermakna.

## SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik simpulan bahwa pola kadar hemoglobin *postmortem* berbentuk kurva, bukan garis. Terjadi penurunan kadar pada jam pertama setelah kematian yang secara statistik bermakna, kemudian diikuti dengan peningkatan pada jam berikutnya (jam ke-2 dan ke-3), akan tetapi secara statistik peningkatannya tidak bermakna. Terdapat perbedaan bermakna antara kadar hemoglobin 1, 2, 3 jam *postmortem* dengan *antemortem*.

## KEPUSTAKAAN

1. Dahlan S. Ilmu Kedokteran Forensik: Pedoman bagi dokter dan penegak hukum, Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro, 2000: 51-64.
2. Knight B. Forensic pathology, 2nd ed., Arnold, London, 1996; 55-79.
3. Introna F. Determination of *postmortem* interval from old skeletal remains by image analysis of luminol test results, in: Medline (R) 1999/01-1999/10. 1999.
4. Neiss P, Hille R, Paschke M, Pilwat G, Schnabel A, Neiss C, Bratzke H. Strontium 90 for Determination

- of time since death (abstract), in: Medline (R) 1999/01-1999/10. 1999.
5. Iscan MY, Quatrehomme G. Medicolegal anthropology in France (abstract), in: Medline (R) 1999/01-1999/10, 1999.
  6. Sanders DC, Chaturvedi AK, Hordinsky JR. Melatonin: Aeromedical, toxicopharmacological, and analytical aspects (abstract), in: Medline (R) 1999/01-1999/10, 1999.
  7. Chen Y. Study on cerebral ATP level with bioluminescent: Method to estimate the time of death (abstract), in: Medline (R) 1999/01-1999/10, 1997.
  8. Gizela BA, Herningtyas EH. Pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit untuk penentuan saat kematian pada tikus putih, Laporan Penelitian MAK 5250, Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2000.
  9. Idries AM. Pedoman Ilmu Kedokteran Forensik, ed. I, Jakarta: Binarupa Aksara, 1997; 53-77.
  10. Hillman and Finch. Red cell manual, 7th ed., Philadelphia: F.A. Davis Company, 1996; 17-9.
  11. Weatherall and Provan. Red cells I: Inherited anemias, Lancet, 2000; 355: 1170.
  12. Brown BA. Hematology: Principles and procedures, 6th ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1993; 42-6.
  13. Strassman G, Mass W. *Postmortem* changes, vital reactions, fat embolism, air embolism, in: ed. RBH. Gradwohl. Legal Medicine, St. Louis: CV. Mosby Company, 1954; 133-6.
  14. Kogawa H, Satoh M, Higuchi T, Fujii-Kiyosue A, Sahara T, Kageyama K. Effect of lactic acid on water content and osmotic fragility of erythrocytes in vitro (abstract), in: Medline (R) 1/96-12/96, 1995.
  15. Hastuti P. Pengaruh penambahan beberapa macam kadar ATP terhadap fragilitas eritrosit darah CPD donor in Vitro, Laporan Penelitian DPPSPP Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta, 1990.