



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 1

Topik :

Pengertian dan Sejarah Forensik

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

PENGANTAR

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menguraikan visi dan misi Universitas Esa Unggul
2. Merinci topik-topik perkuliahan DNA Forensik
3. Mengidentifikasi buku referensi serta komponen dan proporsi penilaian mata kuliah DNA Forensik

B. Uraian dan Contoh

1. Visi dan Misi

Universitas Esa Unggul mempunyai visi menjadi perguruan tinggi kelas dunia berbasis intelektualitas, kreatifitas dan kewirausahaan, yang unggul dalam mutu pengelolaan dan hasil pelaksanaan Tridarma Perguruan Tinggi.

Untuk mewujudkan visi tersebut, maka Universitas Esa Unggul menetapkan misi-misi sebagai berikut :

- a. Menyelenggarakan pendidikan tinggi yang bermutu dan relevan
- b. Menciptakan suasana akademik yang kondusif
- c. Memberikan pelayanan prima kepada seluruh pemangku kepentingan

2. Topik Perkuliahan

Mata kuliah Biologi sel merupakan mata kuliah wajib di Program Studi Bioteknologi. Merupakan mata kuliah wajib bagi mahasiswa karena merupakan mata kuliah lanjutan yang menjadi salah satu ketrampilan dan wawasan yang harus dimiliki setiap mahasiswa di bidang DNA Forensik ini . Dalam mata kuliah DNA Forensik ini akan dibahas mengenai pengertian dan sejarah Forensik, cabang-cabang keimuan yang mendukung ilmu Forensik, Perkembangan dan aplikasi DNA Forensik, Kemajuan teknik dalam DNA Forensik, Teknik pengambilan sampel untuk uji DNA dalam kasus forensic, preparasi DNA Forensik serta analisis DNA Forensik.

Topik mata kuliah DNA Forensik ini terbagi menjadi 2 bagian, yakni bagian ke-1 terdiri dari topik-topik tentang pengertian forensik dan sejarah forensik, cabang-cabang keilmuan yang mendukung ilmu Forensik, Perkembangan dan aplikasi DNA Forensik yang akan diberikan sebelum ujian tengah semester (UTS), sedangkan topik-topik tentang Kemajuan teknik dalam DNA Forensik, Teknik pengambilan sampel untuk uji DNA dalam kasus forensik, preparasi DNA Forensik serta analisis DNA Forensik akan diberikan setelah UTS atau sebelum ujian akhir semester (UAS).

Adapun topik-topik perkuliahan sebelum UTS adalah :

Topik 1 – Kontrak Pembelajaran, pengertian dan sejarah ilmu Forensik

Topik 2 - Cabang-cabang ilmu Forensik

Topik 3 - Pengertian DNA Forensik dan perkembangan keilmuannya

Topik 4 - Variasi genetic pada manusia

Topik 5 – Uji variasi genetic: Profiling DNA

Topik 6 – Teknik RFLP

Topik 7 - Teknik Pengambilan sampel pasien

Untuk topik-topik perkuliahan sebelum UAS adalah :

Topik 8 - Teknik ekstraksi DNA

Topik 09 : uji kuantifikasi DNA

Topik 10 : Metoda Analisis DNA Forensik

Topik 11 : Analisis DNA dengan metoda SNP

Topik 12 : Forensik Genetics

Topik 13 : Forensic DNA analysis

Topik 14 : Genetic marker sex for DNA Forensic analysis

3. Buku Referensi dan Komponen Penilaian

Mata kuliah DNA Forensik memiliki tujuan perkuliahan yang harus diwujudkan dalam satu semester perkuliahan. Adapun tujuan perkuliahan yang dimaksud adalah :

Setelah selesai pembelajaran diharapkan mahasiswa mampu :

- a. Menganalisis Pengertian Forensik dan DNA Forensik
- b. Memahami penggunaan atau aplikasi DNA Forensik dalam kehidupan sehari-hari
- c. Menganalisis proses pengambilan sampel pada pasien untuk DNA forensik
- d. Memahami proses ekstraksi DNA untuk forensik
- e. Memahami dan menganalisis hasil uji DNA dengan metoda SNP, RFLP, dan profiling DNA

Untuk mencapai tujuan tersebut, mata kuliah DNA Forensik ini menggunakan berbagai buku referensi, artikel journal penelitian yang berkaitan dengan keilmuan di bidang DNA dan di bidang Forensik. Untuk penilaian akhir, komponen nilai yang digunakan terdiri dari kehadiran, UTS, UAS dan penugasan. Dalam kuliah *online* komponen penugasan ditambah dengan kuis, sedangkan komponen kehadiran tidak diperhitungkan karena ditekankan pada aspek aktivitas di *website*. Adapun proporsi penilaiannya sebagai berikut :

- a. UTS = 30 %
- b. UAS = 40 %
- c. Kuis = 10 %
- d. Tugas = 10 %
- e. Kehadiran = 10 %

Pengertian Forensik dan Sejarah Forensik

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Forensik
2. Menganalisis sejarah perkembangan keilmuan forensic

B. Uraian

1. Pengertian

Forensik merupakan sebuah penerapan dari berbagai ilmu pengetahuan yang digunakan untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan penting dari sebuah system hukum, yang dalam hal ini berkaitan dengan hukum pidana, penerapan bidang ilmu ini tidak terlepas dari penggunaan metode-metode ilmiah, atau ilmu pengetahuan, aturan-aturan yang dibentuk dari fakta-fakta dari suatu kejadian sebagai bentuk melakukan pengenalan terhadap bukti-bukti fisik.

Menurut Dr Edmond Locard. Istilah Forensik berasal dari bahasa Yunani yaitu "Forensis" yang berarti debat atau perdebatan merupakan bidang ilmu pengetahuan yang digunakan untuk membantu proses penegakan keadilan melalui proses penerapan ilmu (sains). Sedangkan menurut beberapa pendapat lain Forensik berasal dari bahasa Latin yaitu "Forum" yang berarti tempat/lokasi untuk melakukan transaksi.

Prinsip dasar ilmu forensik dipelopori oleh Dr Edmond Locard. Ia berspekulasi bahwa setiap kontak yang anda buat dengan orang lain, tempat, atau hasil objek dalam pertukaran materi fisik. Ini dikenal sebagai *Locard exchange principle*. Ini pertukaran materi fisik dapat digunakan untuk membuktikan tidak bersalah seseorang atau bersalah di pengadilan hukum. Dalam investigasi kriminal yang khas, kejahatan adegan penyelidikan, kadang-kadang dikenal sebagai Penyidik Crime Scene (CSI), akan mengumpulkan bukti fisik dari TKP, korban dan / atau tersangka. Ilmuwan forensik kemudian memeriksa bahan yang dikumpulkan untuk memberikan bukti ilmiah untuk membantu dalam penyelidikan polisi dan proses pengadilan. Dengan demikian, mereka sering bekerja sangat erat dengan pihak kepolisian dalam pengungkapan suatu kasus.



Gambar 1. Tim Forensik Indonesia Ketika bertugas Di Indonesia

Kata “forensik” memiliki arti secara bahasa yaitu “berhubungan dengan ruang sidang”. Ilmu Forensik merupakan cabang dari ilmu kedokteran maupun ilmu-ilmu lain yang terkait dalam suatu penyelidikan untuk memperoleh data-data dalam mengungkap kasus kriminal baik itu data post mortem berdasar pemeriksaan mayat maupun data dari pemeriksaan kasus hidup seperti perkosaan, pelecehan seksual dan/ atau kekerasan dalam rumah tangga.

Ilmu forensik merupakan terapan berbagai ranah keilmuan (multidisiplin) yang penting untuk menentukan identitas korban maupun pelaku, tanda, sebab dan cara kematian, serta perkiraan waktu kematian. Karena dalam suatu penyelidikan kita sering kali membutuhkan ahli tanaman (jika berkenaan dengan kasus tanaman ganja), berhubungan dengan ahli serangga jika menimpa kasus kematian yang diduga karena gigitan serangga, ahli kimia jika bersinggungan dengan kasus pembubuhan dengan bahan kimia, dan masih banyak lagi kasus lainnya yang memerlukan ahli dalam berbagai keilmuan, Sehingga dapat cepat menyimpulkan hasil penyidikan.



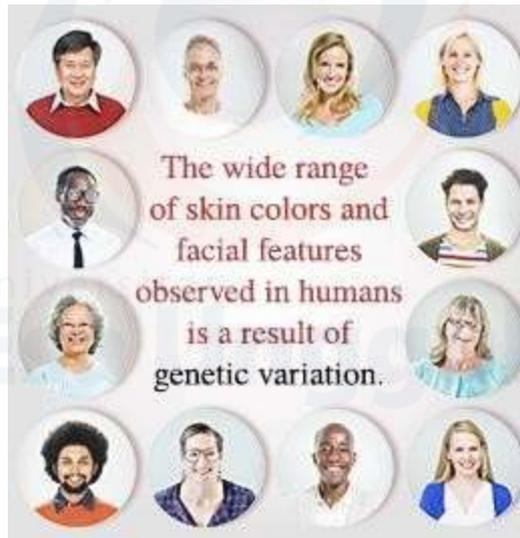
Gambar 2 Para ahli entomologi forensic menyelidiki lama kematian seseorang dari morfologi belatung yang ada di tubuhnya

Produk yang dihasilkan merupakan bukti autentik dalam suatu proses peradilan hukum demi menegakkan kebenaran. Produk tersebut dapat berupa laporan tertulis atau dalam bentuk pengakuan lisan para ahli yang akan diberikan dipengadilan pada tindak kriminal. Kasus nonkriminal, aplikasi forensik sangat diperlukan terutama untuk mengungkap identitas korban musibah masal seperti bencana alam, jatuhnya pesawat, tenggelamnya kapal, kecelakaan kereta dan kebakaran.



Gambar 3. Pencarian korban kecelakaan pesawat Lion Air

Seringkali kita mendengar kabar temuan mayat tanpa identitas dan hanya berselang kurang dari sebulan bahkan kurang dari seminggu pihak kepolisian sudah mampu mengungkap identitasnya yang akan mengarahkan penyelidikan pada sebab, waktu, serta perkiraan cara kematian. Paling penting dapat digunakan sebagai petunjuk untuk mencari pelakunya jika itu merupakan suatu tindak kriminal. Semakin pesatnya perkembangan teknologi memungkinkan polisi mampu memecahkan suatu kasus lebihcepat, ini dikarenakan penerapan teknologi DNA atau deoxyribonucleic acid merupakan asam nukleat yang menyusun informasi genetik pada makhluk hidup. DNA terdapat sebagai rantai ganda (double helix) yang sangat panjang, mengandung potongan-potongan gen sebagai satuan terkecil pengendali sifat dan ciri morfologi seperti warna kulit, jenis rambut, bentuk jari dan sifat-sifat khusus pada manusia.



Gambar 4. Berbagai variasi kulit dan rambut akibat adanya variasi genetic pada setiap individu

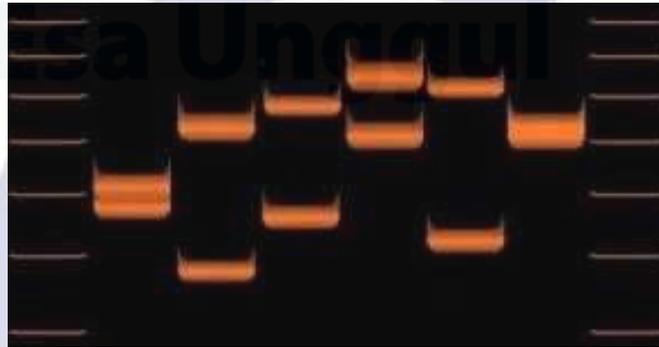
2. DNA dalam Barang Bukti Forensik

Seorang penjahat tanpa disadari pasti akan meninggalkan sesuatu (jejak), sehingga ketika polisi dipanggil ke tempat kejadian serius, tempat kejadian perkara (TKP) segera ditutup dengan pita kuning police line untuk mencegah pencemaran bukti-bukti penting. Ahli forensik harus bergegas ke tempat kejadian sebelum bukti penting yang mungkin membantu mengungkap kejadian hilang/dirusak. Barang bukti forensik yang ditemukan harus diambil sampelnya untuk diperiksa di laboratorium demi mendapatkan data pelengkap dan pendukung.

Salah satu pemeriksaan yang penting dan hasilnya bisa didapat dengan cepat adalah tes sidik DNA. Tes sidik DNA dalam kasus Pita DNA terdiri dari gula pentose dan fosfat Nukleotida yang saling berpasangan forensik utamanya dilakukan untuk tujuan identifikasi korban walaupun sekarang tes sidik DNA juga bisa dilakukan untuk melacak pelaku kejahatan. Pelacakan identitas forensik akan dilakukan dengan mencocokkan antara DNA korban dengan terduga keluarga korban. Hampir semua sampel biologis tubuh dapat digunakan untuk sampel tes sidik DNA, tetapi yang sering digunakan adalah darah, rambut, usapan mulut pada pipi bagian dalam (buccal swab), dan kuku.

Untuk kasus-kasus forensik, sperma, daging, tulang, kulit, air liur atau sampel biologis apa saja yang ditemukan di tempat kejadian perkara (TKP) dapat dijadikan sampel tes sidik DNA. Identifikasi Forensik dengan Tes Sidik DNA Pemeriksaan identifikasi forensik merupakan pemeriksaan yang pertama kali dilakukan, terutama pada kasus tindak kejahatan yang korbannya tidak dikenal walaupun identifikasi juga bisa dilakukan pada kasus non kriminal seperti kecelakaan, korban bencana alam dan perang, serta kasus

paternitas (menentukan orang tua). Secara biologis, pemeriksaan identifikasi korban bisa dilakukan dengan odontologi (gigi-geligi), anthropologi (ciri tubuh), golongan darah serta sidik DNA. Sidik DNA merupakan gambaran pola potongan DNA dari setiap individu. Seperti halnya sidik jari (fingerprint) yang telah lama digunakan oleh detektif dan laboratorium kepolisian sejak tahun 1930.



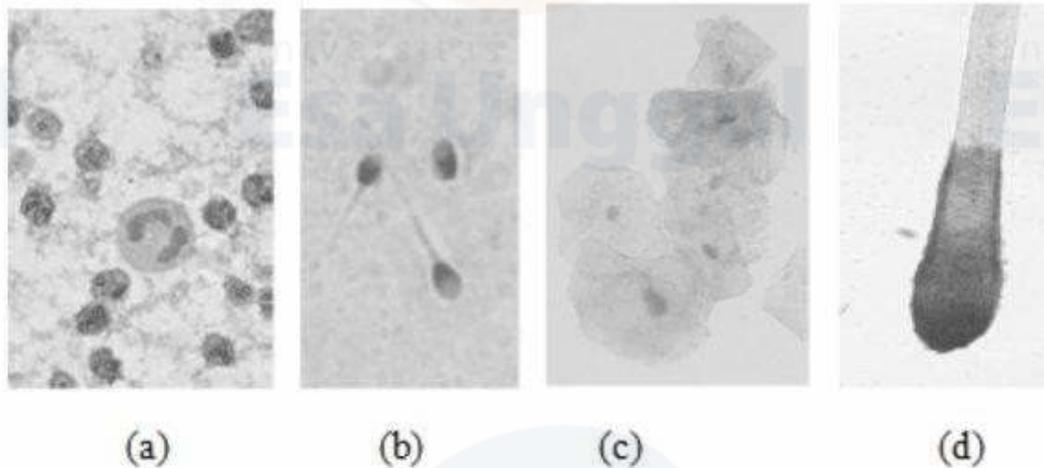
Gambar 5. Tes uji DNA Forensik (DNA Finger printing)

Pada tahun 1980, Alec Jeffreys dengan teknologi DNA berhasil mendemonstrasikan bahwa DNA memiliki bagian-bagian pengulangan (sekuen) yang bervariasi. Hal ini dinamakan polimorfisme, yang dapat digunakan sebagai sarana identifikasi spesifik (individual) dari seseorang. Perbedaan sidik DNA setiap orang atau individu layaknya sidik jari, sidik DNA ini juga bisa dibaca. Tidak seperti sidik jari pada ujung jari seseorang yang dapat diubah dengan operasi, sidik DNA tidak dapat dirubah oleh siapapun dan dengan alat apapun. Bahkan, sidik DNA mempunyai kesamaan pada setiap sel, jaringan dan organ pada setiap individu. Oleh karena itu sidik DNA menjadi suatu metode identifikasi yang sangat akurat.

Hanya sekitar 3 juta basa DNA yang berbeda antara satu orang dengan orang lain. Para ahli menggunakan daerah yang berbeda ini untuk menghasilkan profil DNA dari seseorang individu, menggunakan sampel dari darah, tulang, rambut atau jaringan tubuh yang lain. Pada kasus kriminal, biasanya melibatkan sampel dari barang bukti dan tersangka, mengekstrak DNAnya, dan menganalisisnya untuk melihat suatu daerah khusus pada DNA (marker). Para ilmuwan telah menemukan marker di dalam sampel DNA dengan mendesain sepotong kecil DNA (probe) yang masing-masing akan mencari dan berikatan dengan sekuen DNA pasangan/komplementernya pada sampel DNA.

Satu seri probe akan berikatan dengan DNA sampel dan menghasilkan pola yang berbeda antara satu individu dengan individu yang lain. Para ahli forensik membandingkan profil DNA ini untuk menentukan apakah sampel dari tersangka cocok dengan sampel pada bukti. Marker sendiri biasanya tidak bersifat khusus untuk setiap individu, jika dua sampel

DNA mirip pada empat atau lima daerah, sampel tersebut mungkin berasal dari individu yang sama. jika profil sampel tidak sama, berarti seseorang tersebut bukan pemilik DNA yang ditemukan pada lokasi kriminalitas. Jika pola yang ditemukan sama, tersangka tersebut kemungkinan memiliki DNA pada sampel bukti.

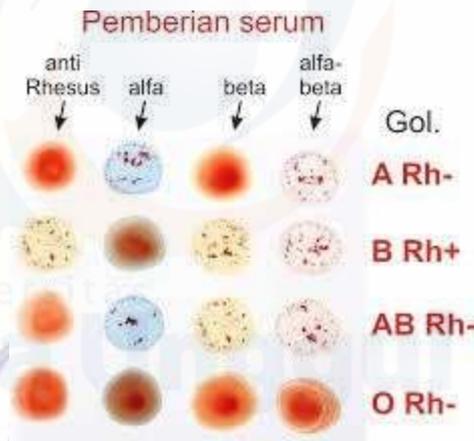


Gambar 6. Sampel korban yang dapat dilakukan uji DNA forensic (a) Darah (b) sperma (c) sel epitel (d) batang rambut

4. Sejarah Forensik

Sampai dengan akhir abad ke-19 ini, penyelesaian sebuah kasus sangat bergantung pada keterangan dan pengakuan para saksi. Namun seiring dengan berjalannya waktu, kejahatan semakin merajalela, di antaranya adalah munculnya kelompok-kelompok penjahat, tingkat pembunuhan yang semakin tinggi, dan semakin makmurnya populasi sehingga memiliki banyak barang berharga yang berpotensi untuk dicuri, membuat tingkat perampokan dan pencurian semakin mengkhawatirkan. Hal-hal ini yang membuat pihak yang berwenang dalam menyelesaikan suatu kasus tidak dapat lagi bergantung sepenuhnya pada keterangan dan pengakuan para saksi yang ada.

Kemudian diketahui teori mengenai sidik jari manusia, bahwa tidak ada dua orang yang memiliki sidik jari yang sama atau kembar. Pada tahun 1901, muncul terobosan ilmiah mengenai sistem pengelompokan golongan darah ABO yang dikemukakan oleh ahli biologi Austria yang juga pemenang nobel, Karl Landsteiner. Dan pada tahun yang sama, ahli biologi Jerman, Paul Uhlenhuth menggunakan tes precipitin untuk mengetahui apakah sebuah sampel darah itu adalah darah manusia atau darah hewan.



Gambar 7. Hasil uji golongan Darah ABO

Sehingga muncullah revolusioner yang sangat membantu dalam proses investigasi kasus kejahatan. Perkembangan berikutnya terjadi pada tahun 1910, di mana seorang ilmuwan forensik asal Prancis bernama Edmond Locard mengembangkan teori bahwa antara dua orang yang terjadi kontak secara fisik, walaupun dengan cara yang singkat, sesuatu dari seseorang di antaranya akan ditransfer ke seseorang yang lain.

Scientific Method and Law (Hukum dan Metode Ilmiah) Untuk menentukan sejarah permulaan ilmu pengetahuan forensik, seseorang harus mempertimbangkan evolusi proses hukum di Eropa, terutama Inggris. Penentuan bersalah atau tidak bersalahnya suatu tindak kejahatan dimulai dari peradilan primitif melalui cobaan berat, proses inquisitorial, dan pada akhirnya ajaran dasar yurisprudensi modern, yaitu praduga tak bersalah berdasarkan hukum Anglo-Saxon dan praduga bersalah berdasarkan Napoleon Code. Metode ilmiah atau penyelidikan rasional menjadi bagian dari proses peradilan pada abad ke-19, dan ilmu pengetahuan forensik berkembang dengan cepat pada abad ke-20. Kemajuan teknologi terus mendorong pertumbuhan ilmu pengetahuan forensik.

Sejarah Forensik, dimulai oleh penemuan Francis Galton (1822-1911) tentang sidik jari, setiap orang memiliki sidik jari berbeda. Kemudian Leone Lattes (1887-1954) menemukan perbedaan golongan darah (A,B,AB & O) pada setiap orang yang berbeda, namun hal ini belum dapat digunakan sepenuhnya untuk identifikasi seseorang mengingat banyak orang yang memiliki golongan darah yang sama. Calvin Goddard (1891-1955) ahli dalam penentuan senjata dan peluru (Balistik), yang akan mengidentifikasi jenis senjata dan peluru yang digunakan dalam kejahatan sehingga dapat mengidentifikasi pelaku kejahatan dari golongan mana yang menggunakan jenis senjata dan peluru tersebut.



Gambar 8. Sidik jari setiap orang berbeda yang dapat dijadikan identifikasi dalam forensic

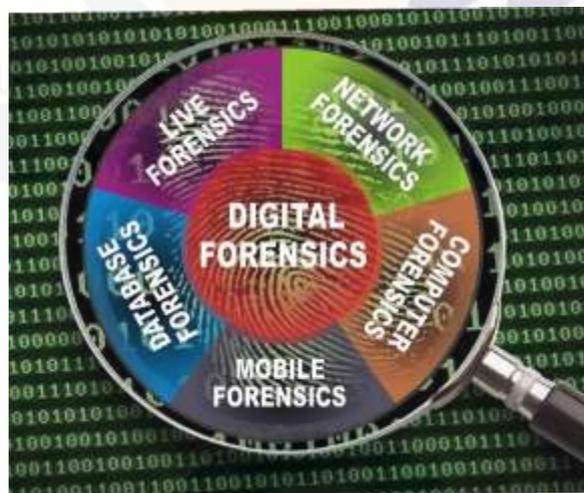
Penelitian dan pengembangan Document examination dilakukan oleh Albert Osborn (1858-1946), yang mampu mengidentifikasi kejadian berdasarkan dokumen yang ditemukan di tempat kejadian. Hans Gross (1847-1915) menerapkan ilmiah dalam investigasi criminal. Segala sesuatu kejadian yang terjadi di lapanga dicoba dikaji secara ilmiah secara teka-teki masalah criminal dapat dipecahkan yang dikaitkan dengan ilmi sains dan logika secara ilmiah. Tim FBI tahun 1932 mulai mengembangkan laboratorium forensik untuk meneliti segala peralatan yang dilakukan dalam kejahatan atau dalam kecelakaan sehingga indentifikasi korban atau pelaku dapat segera diungkapkan dengan uji sidik jari, golongan darah, serta uji lainnya yang dapat dilakukan di laboratorium forensic.

Untuk lebih jelasnya, perkembangan ilmu forensik dapat dilihat pada gambar diagram di bawah ini.



Gambar 9. Sejarah perkembangan forensic

Sejarah Digital Forensics dapat ditelusuri kembali ke tahun 1970-an, ketika peneliti militer mulai menemukan contoh dari aktivitas kriminal yang berkaitan dengan komputer dan membutuhkan pendekatan yang lebih komprehensif untuk memecahkan kejahatan teknis. Banyak program belajar dari Digital Forensics dan pelatihan sekarang dilaksanakan termasuk Sejarah Komputer Forensik sehingga masyarakat dapat belajar tentang bagaimana industri ini berkembang, dan jenis pelanggaran keamanan dan kejahatan dunia maya telah mempengaruhi individu dan bisnis dari waktu ke waktu.



Gambar 10. Pada digital Forensic banyak bidang yang akan mendukung sehingga mengungkapkan kasus dalam kecelakaan atau kejahatan

Berikut adalah sejarah penggunaan Digital Forensic, yang dimulai pada tahun 1970 dengan ditemukannya kejahatan kasus pertama yang melibatkan komputer, penipuan terutama keuangan dalam perbankan. Tahun 1980, para peneliti keuangan dan pengadilan

mencoba membuktikan kejadian dari catatan dan bukti-bukti hanya pada komputer. Tahun 1984, tim FBI membuat Media Magnetic Program dan membuat tim Analisis Komputer dan Response Team (CART).

Tahun 1987, Acces Data, sebuah Perusahaan Forensik Cyber mulai berdiri untuk membuat produk-produk software di bidang digital forensic. Selanjutnya pada tahun 1988, diciptakan IACIS, sebuah Asosiasi Internasional Komputer Spesialis Investigasi yang akan membantu tim investigasi dalam permasalahan kejahatan digital forensic. Tahun 1993, pertama diselenggarakan Konferensi Internasional Pertama tentang digital computer. Tahun 1995, dibentuk Organisasi Internasional pada investigasi Komputer (IOCE). Tahun 1997, Negara-negara G8 di Moskow menyatakan bahwa “aparatus penegak hukum harus dilatih dan dilengkapi untuk menangani kejahatan teknologi tinggi”. Tahun 1998, Negara-negara G8 ditunjuk IICE untuk membuat prinsip-prinsip internasional, pedoman dan prosedur yang berkaitan dengan bukti digital. Tahun 1998, diadakan symposium INTERPOL Forensic Science. Tahun 1999, tim FBI menggunakan computer dengan 17 terabyte data sehingga mampu mbongkar lebih dari 2000 kasus. Tahun 2000, didirikan Laboratorium Forensik FBI Regional Computer pertama, dan tahun 2003, berhasil memeriksa lebih dari 6500 kasus, dengan menggunakan 782 terabyte data

Ilmu Forensik sekarang tidak lagi hanya berhubungan dengan pembunuhan ataupun bidang kedokteran. Saat ini, ilmu forensik semakin luas, di antaranya adalah :

1. Art Forensic
2. Computational Forensic
3. Digital Forensic
4. Forensic Accounting
5. Forensic Chemistry
6. Forensic DNA Analysis
7. Forensic Pathology
8. Forensic Video Analysis
9. Mobile Device Forensics
10. Blood Spatter Analysis
11. Forensic Investigation

Penggunaan prinsip dan prosedur ilmiah untuk memecahkan masalah hukum dikenal sebagai ilmu pengetahuan forensik. Istilah “forensik” dapat menggambarkan sejumlah disiplin ilmiah, di antaranya kimia, toksikologi, psikiatri, patologi, biologi, dan teknik. Oleh karena itu, sangatlah wajar untuk memikirkan ilmu pengetahuan forensik dalam kaitannya dengan ilmu pengetahuan alam, fisika, dan ilmu sosial, pengelompokan

besar cabang pengetahuan terkumpul di mana kebenaran dan hukum diperiksa dan dicatat. Ketika ilmu pengetahuan forensik digunakan untuk menyelesaikan masalah hukum, banyak subkelompok menjadi spesialisasi yang dikenal sebagai farmakologi forensik, psikologi forensik, dan lain-lain. Sebenarnya, tiap subspecialisasi ini dapat digunakan dalam pemecahan masalah hukum.

C. Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 2

Topik :

Teknologi dalam DNA Forensik

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

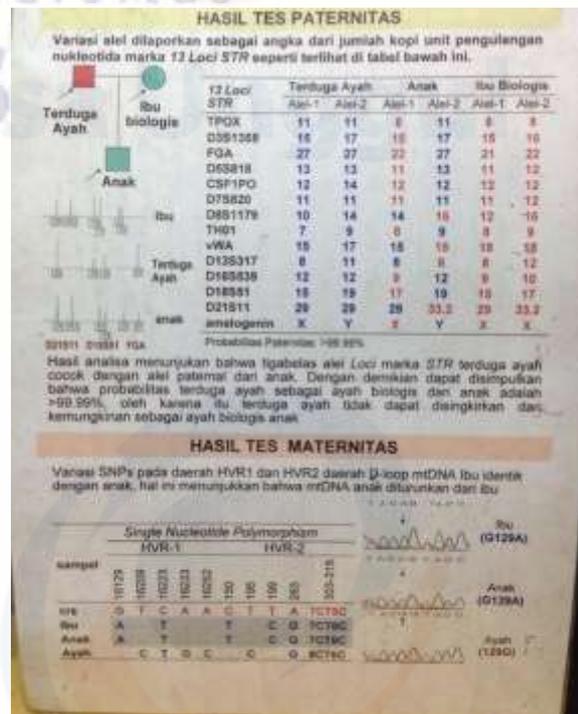
Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Teknologi DNA Forensik
2. Menganalisis berbagai perkembangan terkini Teknologi dalam isolasi dan analisis DNA di bidang Forensik

B. Uraian

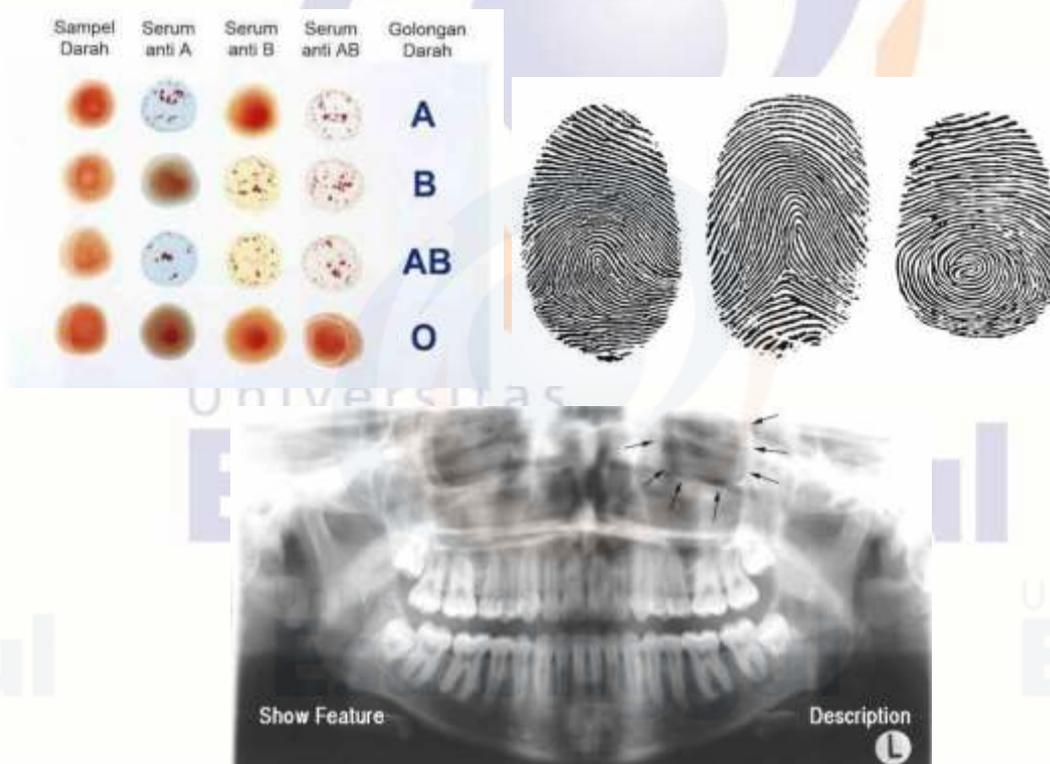
1. Pengertian

Pada beberapa kasus forensik, penting sekali identifikasi golongan darah dalam kaitannya dengan kecocokan golongan darah pada barang bukti korban atau pelaku. Namun dalam hal identifikasi korban, seringkali tidak dapat digunakan metode konvensional, sehingga perlu identifikasi forensik melalui analisis DNA. Teknik analisis DNA merupakan metoda yang tepat untuk identifikasi genotip suatu individu, sehingga dapat mengidentifikasi seseorang dengan tepat. Analisis DNA merupakan suatu metode yang sangat potensial yang dewasa ini telah diterima secara luas sebagai suatu cara identifikasi dalam bidang forensik, sebab hanya dibutuhkan sedikit sampel saja yang dapat diambil dari semua sel berinti di seluruh tubuh. Analisis DNA dalam bidang forensik merupakan teknik yang relatif baru dan berkembang pesat sesuai dengan peningkatan kualitas dan kuantitas kriminalitas atau kecelakaan, serta digunakan dalam penentuan hubungan keluarga.



Gambar 1. Hasil Tes Paternitas dan Tes Maternitas dengan teknik DNA

Identifikasi personal merupakan suatu masalah dalam kasus pidana maupun perdata. Menentukan identitas personal dengan tepat amat penting dalam penyidikan karena adanya kekeliruan dapat berakibat fatal dalam proses peradilan. Identifikasi dalam kedokteran forensik diantaranya sidik jari (daktiloskopi), pemeriksaan property, medis, gigi-geligi, serologi, dan metode eksklusif. Saat ini metode identifikasi telah berkembang ke arah forensik molekuler. Forensik molekuler pertama kali diperkenalkan oleh Sir Alex Jefreys pada tahun 1985, yang memanfaatkan pengetahuan kedokteran dan biologi pada tingkat molekul atau DNA (Deoxyribonucleic acid).



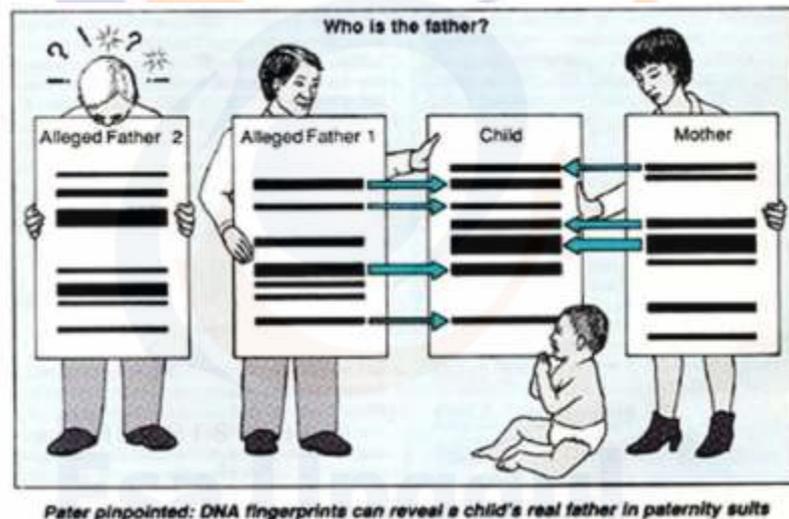
Gambar 2. Identifikasi Forensik secara konvensional dengan golongan darah, sidik jari dan susunan gigi

Setiap bagian tubuh manusia dapat diambil sebagai spesimen karena setiap sel yang berinti dalam tubuh seseorang memiliki rangkaian DNA identik, dimana seorang anak pada dasarnya menerima jumlah material genetika yang sama dari ibu dan ayah kandungnya (hukum pewarisan sifat dari Mendel). Selama ini spesimen (sampel) yang banyak dipakai dalam pemeriksaan DNA untuk mengidentifikasi adalah bercak darah/darah, bercak sperma, vaginal swab, buccal swab, dan tulang. Dalam kedokteran forensik, salah satu pemeriksaan yang sangat membantu penyidikan adalah pemeriksaan barang bukti yang ada di tubuh korban, pelaku kejahatan dan tempat kejadian perkara (TKP).

2. DNA Fingerprinting

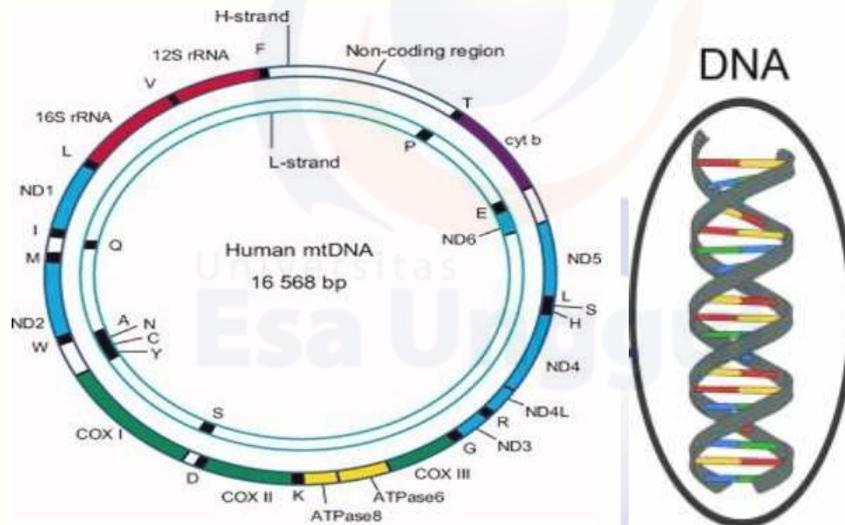
DNA fingerprinting adalah teknik untuk mengidentifikasi seseorang berdasarkan pada profil DNANYa. Terdapat dua aspek DNA yang mendasari teknik DNA fingerprinting, yaitu di dalam satu individu terdapat DNA yang seragam dan setiap individu memiliki variasi genetik yang berbeda.

Prosedur DNA finger printing memiliki kesamaan dengan mencocokkan sidik jari seseorang dengan orang lain. Hanya saja perbedaannya adalah proses ini dilakukan tidak menggunakan sidik jari, tetapi menggunakan DNA individu karena secara individu DNA seseorang itu unik. DNA merupakan materi hereditas yang berfungsi untuk menentukan suatu urutan keturunan dalam suatu keluarga secara turun-menurun dengan pola yang acak (karena berasal dari fusi inti ovum dan sperma) sehingga dapat digunakan untuk identifikasi seseorang secara tepat.



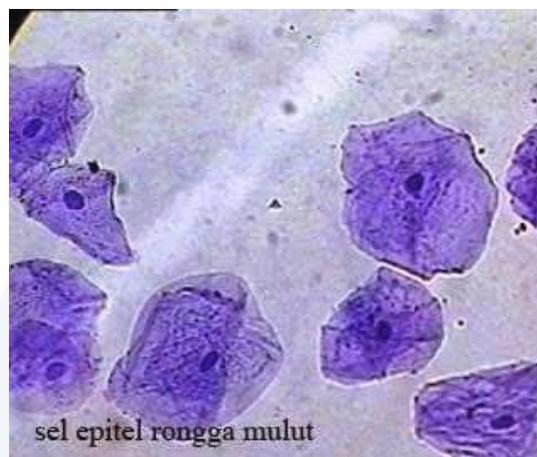
Gambar 3. Uji DNA Fingerprint untuk test paternity dan maternity

DNA yang biasa digunakan dalam uji DNA adalah DNA mitokondria dan DNA inti sel. DNA yang paling akurat untuk uji identifikasi adalah DNA inti sel karena DNA inti sel tidak mengalami perubahan berarti (kecuali jika terjadi mutase DNA) sedangkan DNA dalam mitokondria mudah sekali mengalami mutase DNA.



Gambar 4. DNA Mitokondria dan DNA inti sel

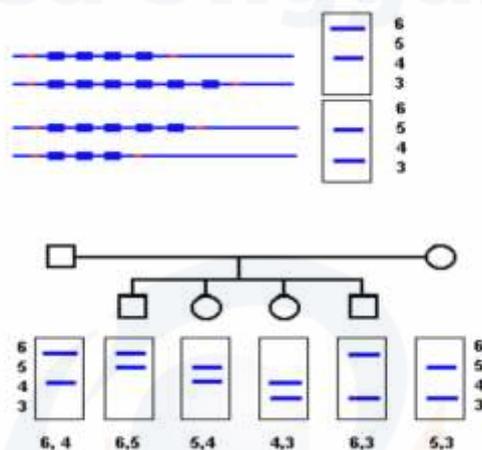
Pada kasus-kasus kriminal, penggunaan kedua tes DNA diatas, bergantung pada barang bukti apa yang ditemukan di Tempat Kejadian Perkara (TKP). Seperti jika ditemukan puntung rokok, maka yang diperiksa adalah DNA inti sel yang terdapat dalam epitel bibir karena ketika rokok dihisap dalam mulut, epitel dalam bibir ada yang tertinggal di puntung rokok. Epitel pada puntung rokok ini masih mengandung unsur DNA, sehingga dapat diuji DNA. Untuk kasus pemerkosaan diperiksa spermanya tetapi yang lebih utama adalah kepala spermatozoanya yang terdapat DNA inti sel didalamnya. Sedangkan jika di TKP ditemukan satu helai rambut maka sampel ini dapat diperiksa asal ada akarnya. Namun untuk DNA mitokondria tidak harus ada akar, cukup potongan rambut karena diketahui bahwa pada ujung rambut terdapat DNA mitokondria sedangkan akar rambut terdapat DNA inti sel. Bagian-bagian tubuh lainnya yang dapat diperiksa selain epitel bibir, sperma dan rambut adalah sel darah, daging, tulang dan sel kuku.



Gambar 5. Sel epitel yang memiliki inti sel

Metoda DNA fingerprinting bergantung pada sebagian kecil dari genom. Setiap DNA tersusun dari ekson yang merupakan daerah yang mengkode protein dan intron yang berupa daerah non-coding, biasanya disebut junk DNA. Dalam DNA kromosom terdapat sekuens berukuran 20-100 bp yang berulang. Sekuen pengulangan ini dikenal sebagai VNTRs (Variable Number Tandem Repeats) yang dapat diisolasi dari DNA seseorang. Setiap individu memiliki VNTRs yang diturunkan oleh ayah dan ibu sehingga tidak ada individu yang memiliki VNTRs sama persis. Perbedaan VNTRs dari setiap individu terletak dalam pada berapa kali sequence ini diulang dalam daerah VNTRs. Perbedaan jumlah pengulangan ini akan menyebabkan setiap individu memiliki Panjang VNTRs yang berbeda sehingga memungkinkan untuk mengetahui identitas seseorang melalui profil DNANYa.

Pada gambar dibawah menunjukkan kromosom dari sepasang orang tua (atas) dan individu garis keturunannya (bawah). Orang tua pertama (mis:bapak) mempunyai satu kromosom dengan 4 kali sequen ulangan dan satu kromosom dengan 6 kali sequen ulangan. Orang tua lainnya (mis:ibu) mempunyai satu kromosom dengan 3 kali sequen ulangan dan satu kromosom dengan 5 kali sequen ulangan. Maka garis keturunannya pada gambar bawah adalah 4 orang anakny yang mempunyai variasi ulangan sequen yang mirip dengan kedua orang tuanya. DNA dari setiap anak setelah dianalisis pada "VNTR repeat number" pada gel terlihat setiap individu memperlihatkan genotype yang berbeda tetapi mempunyai padanan mirip dengan kedua orang tuanya. Perlu diperhatikan bahwa setiap orang dari jumlah 6 orang tersebut (2 orang tua, 4 anak) masing-masing berbeda berdasarkan VNTR pada satu locus genetik.



Gambar 6. Variasi sekuen pada kromosom yang sama hasil perkawinan kedua orang tua yang menghasilkan variasi kedua orang tua

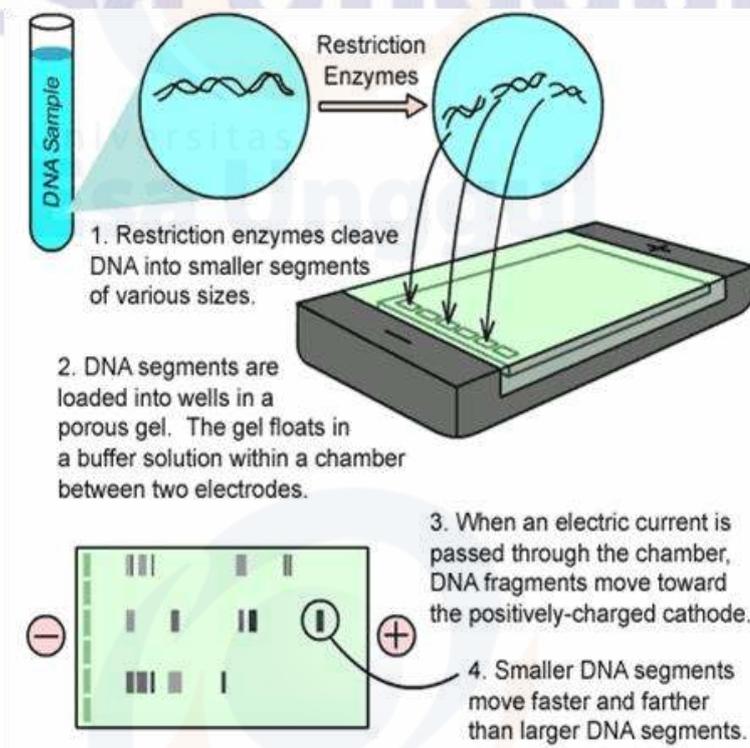
3. Teknologi dalam DNA fingerprint

Berbagai metode untuk melakukan DNA fingerprint antara lain elektroforesis, PCR, analisa STR, .

a. Elektroforesis

Merupakan teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam suatu matriks yang dipengaruhi oleh medan listrik. Komponen atau molekul tersebut dapat berupa DNA, RNA, maupun Protein dari pengotor lain. Elektroforesis menyediakan informasi mengenai ukuran, muatan, dan jenis komponen yang dielektroforesis.

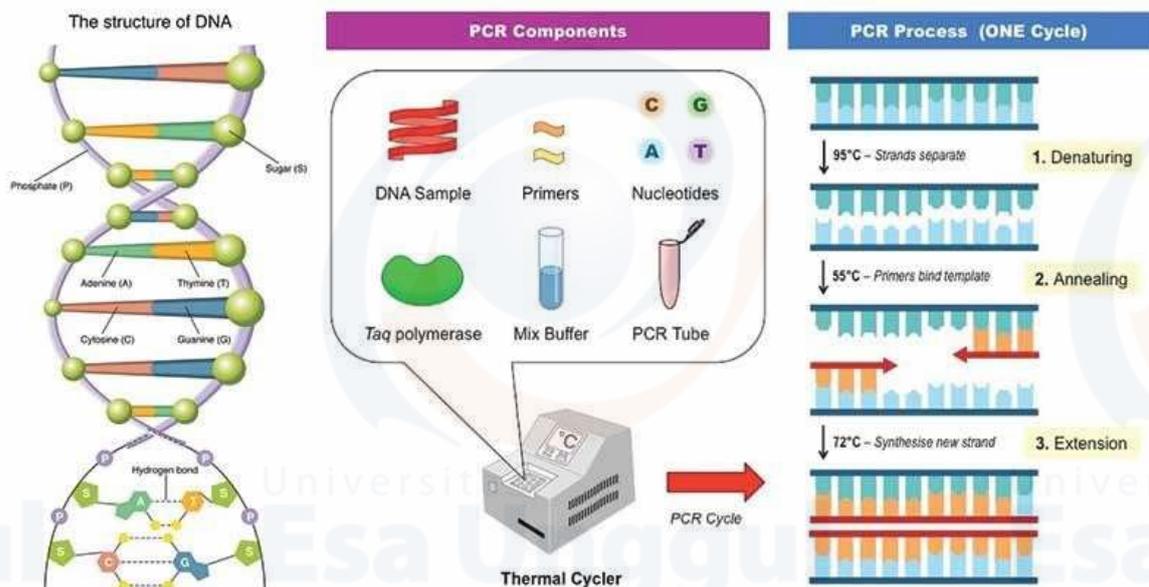
Aplikasi elektroforesis yaitu untuk uji patemitas dan identifikasi pelaku kejahatan (DNA fingerprinting). Elektroforesis juga berperan dalam human genome project. Terdapat lima jenis gel yang dapat digunakan dalam elektroforesis DNA yaitu gel poliakrilamida, gel alkalin agarosa, gel agarosa, pati, dan cellulose acetat. Gel poliakrilamida berfungsi untuk menganalisis hasil ekstensiprimer. Gel alkalin agarosa berfungsi untuk memisahkan rantai DNA yang berukuran besar. Gel agarosa berfungsi untuk menyediakan sistem elektroforesis yang digunakan untuk fraksi RNA pada ukuran standar, pati dan cellulose acetat digunakan untuk memisahkan protein.



Gambar 7. Rangkaian alat elektroforesis

b. Teknik PCR (polymerase chain reaction) atau dot blot (slot bot)

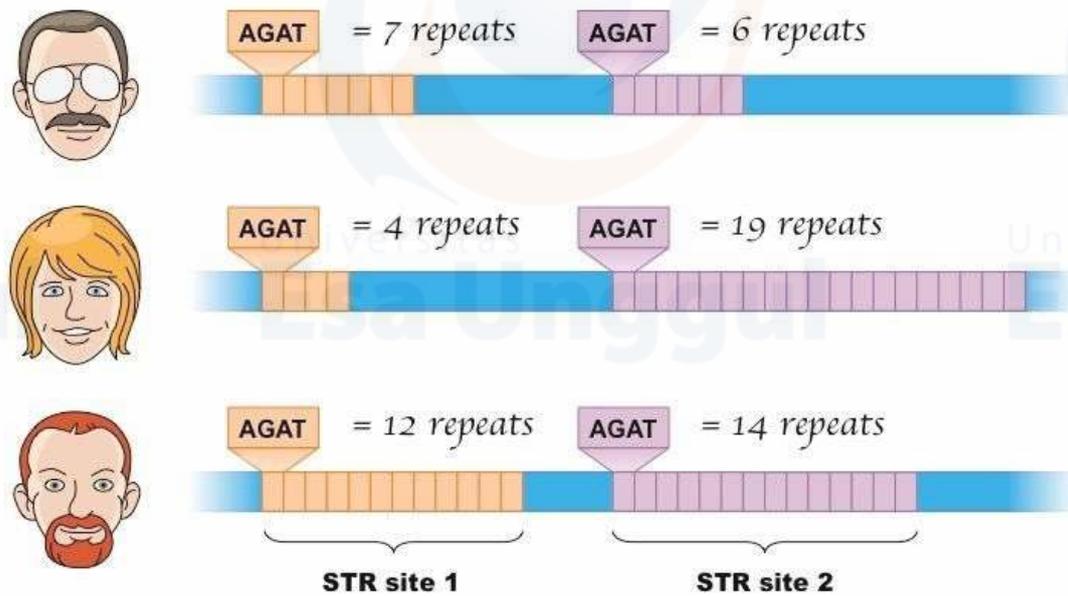
Merupakan suatu teknik perbanyakan (amplifikasi) potongan DNA secara in vitro pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplementer dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara in vivo yang bersifat semi konservatif. PCR mampu mengamplifikasi sejumlah daerah spesifik yang terdapat pada DNA menggunakan primer oligonukleotida dan DNA polymerase yang termotabil. PCR memiliki kelebihan yaitu kemampuan untuk membedakannya lebih akurat dan dapat digunakan untuk menganalisa sampel yang tersedia dalam jumlah kecil maupun yang telah terdegradasi oleh cahaya matahari.



Gambar 8. Teknik PCR

c. Analisa STR (Short Tandem Repeats)

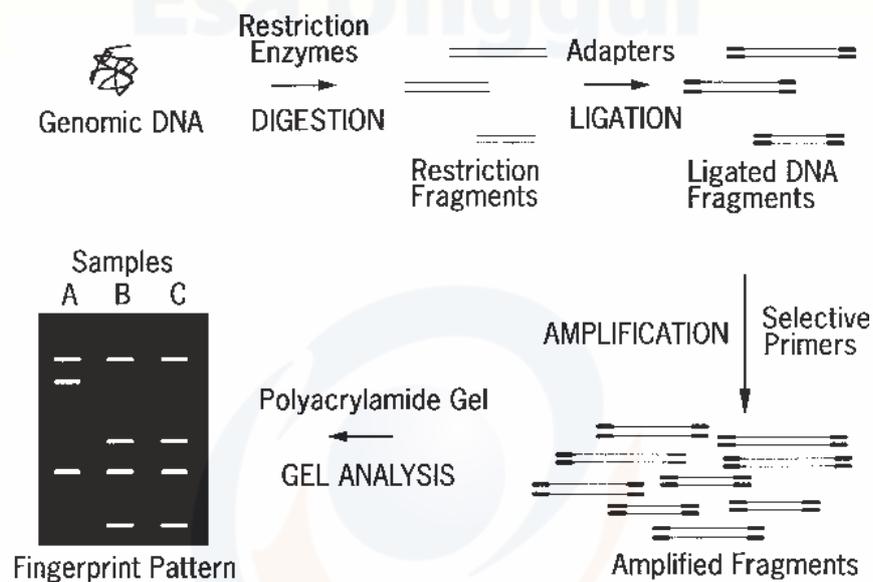
Analisa STR merupakan polimorfisme DNA yang terjadi karena adanya 2 atau lebih nukleotida yang berulang. Pola pengulangannya adalah terdiri dari 2-10 bp dan terjadi pada daerah intron dari DNA. Dengan menganalisa locus dari STR dan menghitung berapa banyak perulangan dari sekuens STR yang terjadi di setiap lokus, maka dapat terbaca profil genetic yang unik dari setiap individu. Analisa STR memerlukan teknik PCR dan elektroforesis gel agarose. Dengan PCR daerah polimorfik dari DNA sehingga jumlah perulangan yang terjadi dapat dihitung dengan membandingkan perbedaan ukuran dengan allelic ladder. Analisa dengan STR ini tidak dapat dilakukan apabila 2 individu merupakan kembar homozygote.



Gambar 9. Sekuen Short Tandem Repeats yang khas pada setiap orang

d. Teknik AmpFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

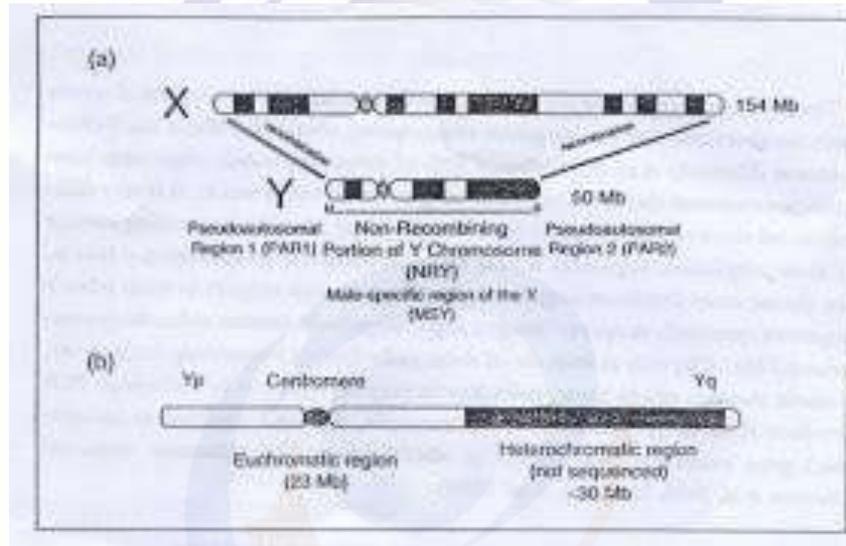
Teknik AmpFLP untuk DNA profiling memiliki beberapa keunggulan yaitu lebih cepat daripada Analisa dengan RFLP dan biaya yang dibutuhkan lebih murah. Teknik ini berdasarkan pada polimorfisme VNTR untuk membedakan alel yang berbeda. Teknik ini menggunakan PCR untuk mengamplifikasi daerah VNTR dan kemudian hasil amplifikasi dipisahkan dengan gel poliakrilamid dan diwarnai dengan teknik silver stained. Salah satu locus yang sering digunakan dalam teknik ini adalah locus D1S80.



Gambar 10. Teknik AmpFLP

e. Analisa kromosom YDNA profiling

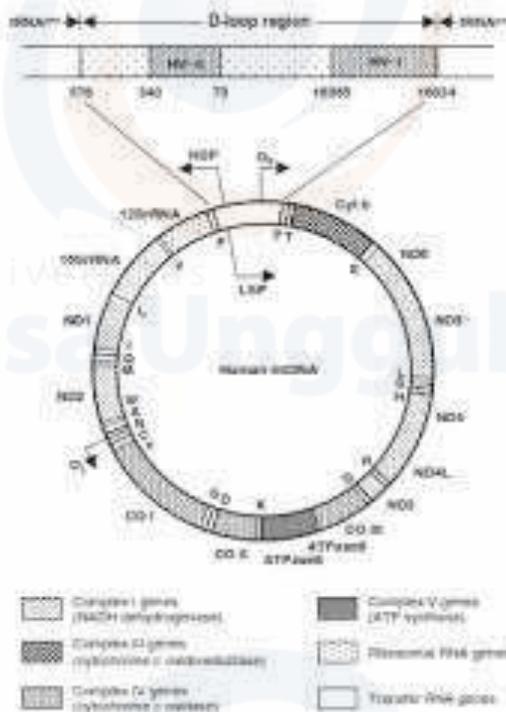
Teknik Analisa kromosom Y menggunakan primer spesifik yang akan mengamplifikasi daerah polimorfisme pada kromosom Y (Y-STR). Pada kasus pemerkosaan, teknik ini menghasilkan resolusi yang lebih baik karena biasanya DNA sampel yang didapat dalam keadaan tercampur dengan DNA korban. Kromosom Y diturunkan oleh ayah sehingga menganalisa kromosom Y juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi hubungan parental seorang pria.



Gambar 11. Teknik Analisa Kromosom Y profiling

a. Teknik Analisa DNA mitokondria

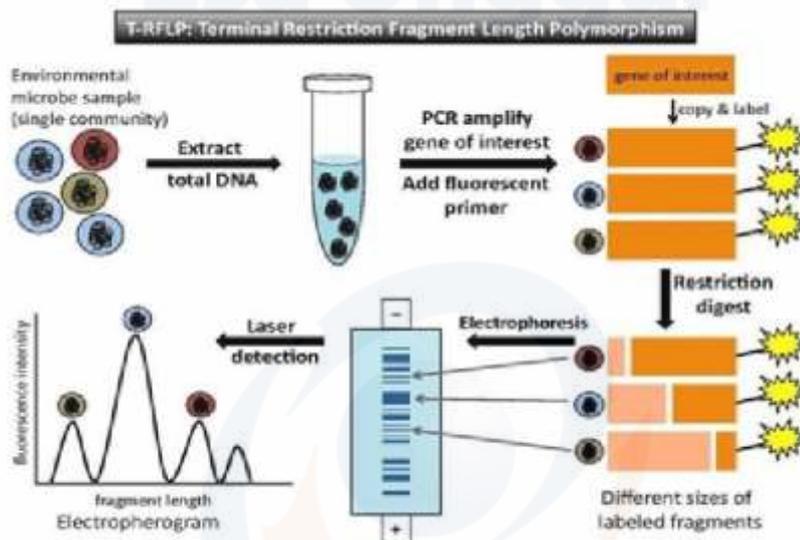
DNA mitokondria terdapat dalam jumlah banyak dalam sel, tidak seperti DNA kromosom yang hanya terdapat 1 atau 2 dalam setiap sel. Hal ini memungkinkan apabila sampel yang ada telah rusak DNA kromosomnya, maka dengan DNA mitokondria, bagian yang diamplifikasi adalah daerah HV1 dan HV2 dari DNA mitokondria dimana sekuens hasil amplifikasi yang didapat dapat dibandingkan dengan pola band referensi. DNA mitokondria ini diturunkan ibu.



Gambar 12. Teknik profiling DNA mitokondria

b. Analisa RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

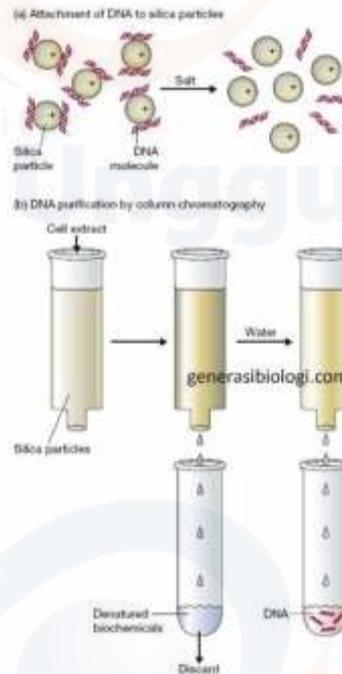
Analisa RFLP adalah ukuran fragmen DNA yang diperoleh oleh pemotongan sequence VNTRs sampai 30 urutan dengan enzim restriksi di situs spesifik. Prinsip dasar dari Analisa RFLP ini adalah enzim restriksi dan situs pengenalan. Prinsip dasar dari Analisa RFLP ini adalah enzim restriksi akan memotong DNA pada sekuens yang spesifik dimana hasil pemotongan tersebut kemudian dianalisa dengan elektrofisis gel agarosa.



Gambar 13. Teknik RFLP

Tahapan proses DNA fingerprint

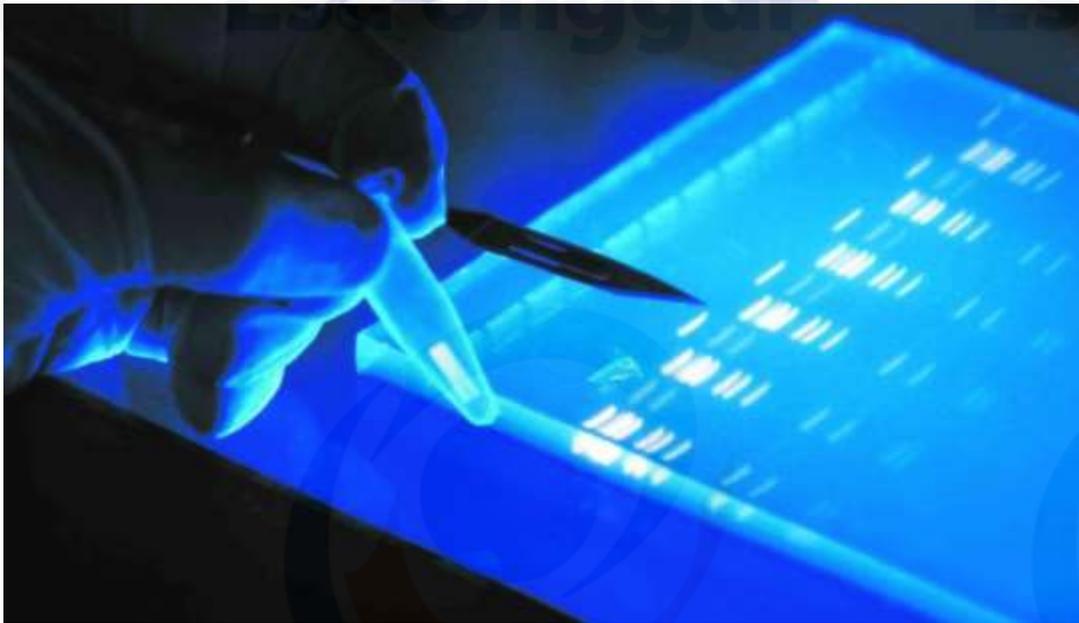
1. Proses fingerprinting DNA dimulai dengan mengisolasi DNA dari bagian tubuh seperti darah, air mani, cairan vagina, akar rambut, gigi, tulang, dan lain-lain.



Gambar 14. Isolasi DNA

2. Polymerase chain reaction (PCR) adalah langkah selanjutnya dalam proses. Dalam banyak situasi, hanya ada sejumlah kecil DNA yang tersedia untuk sidik jari DNA. Karenanya, dalam tabung reaksi, replikasi DNA terjadi untuk membuat lebih banyak DNA. DNA dan sel akan mengalami replikasi DNA untuk membuat lebih banyak DNA yang akan diuji.
3. Setelah DNA diisolasi dan lebih banyak salinan DNA telah dibuat, DNA akan diuji dengan memotong DNA menggunakan enzim restriksi (enzim yang memotong DNA dekat urutan nukleotida pengenalan spesifik yang dikenal sebagai situs pembatasan). Ini akan menghasilkan fragmen berukuran berbeda yang dikenal sebagai polimorfisme fragmen panjang restriksi (RFLPs). Fragmen ini kemudian dapat diamati dengan melakukan percobaan yang disebut elektroforesis gel yang memisahkan DNA berdasarkan ukuran fragmen.
4. Elektroforesis gel adalah langkah selanjutnya dalam proses sidik jari DNA ini. Selama elektroforesis gel, arus listrik diterapkan pada campuran gel, yang meliputi sampel DNA. Arus listrik menyebabkan untai DNA bergerak melalui gel. Ini memisahkan molekul dengan ukuran berbeda. Pecahan DNA terpisah disaring keluar dari gel menggunakan membran nilon (diperlakukan dengan bahan kimia yang memungkinkan untuk memecahkan ikatan hidrogen DNA sehingga ada untai sing).

5. DNA (single stranded) adalah cross-linked terhadap nilon menggunakan panas atau sinar UV.
6. Probe muncul di film fotografi karena untaian DNA akan menyerap cahaya. Pada akhirnya itu meninggalkan bintik-bintik hitam pada film yang juga dikenal sebagai pita DNA seseorang. Apa yang membentuk sidik jari adalah pola pita yang unik. Pola band berbeda karena kita semua berbeda dan unik (selain kembar identik).



Gambar 14. Hasil Elektroforesis

7. Setelah filter terpapar pada film x-ray, urutan DNA radioaktif ditampilkan dan dapat dilihat dengan mata telanjang. Ini menciptakan pola pita atau apa yang kita kenal sebagai sidik jari DNA. Teknik ini disebut southern blotting. Sidik jari DNA anak-anak harus serupa dengan sidik jari orang tua mereka, meskipun mereka mungkin tidak sama. Beberapa pita akan cocok dengan salah satu orang tua dan pita lain dapat cocok dengan orang tua lainnya. Dengan pita kedua orang tua itu, mereka membuat pita dan identitas anak.

Prinsip Kerja DNA Fingerprint



Gambar 15. Prinsip rangkaian uji DNA Fingerprinting

Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 3

Topik :

Short Tandem Repeat : Locus dan Kit uji

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

Universitas
Esa Unggul
UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

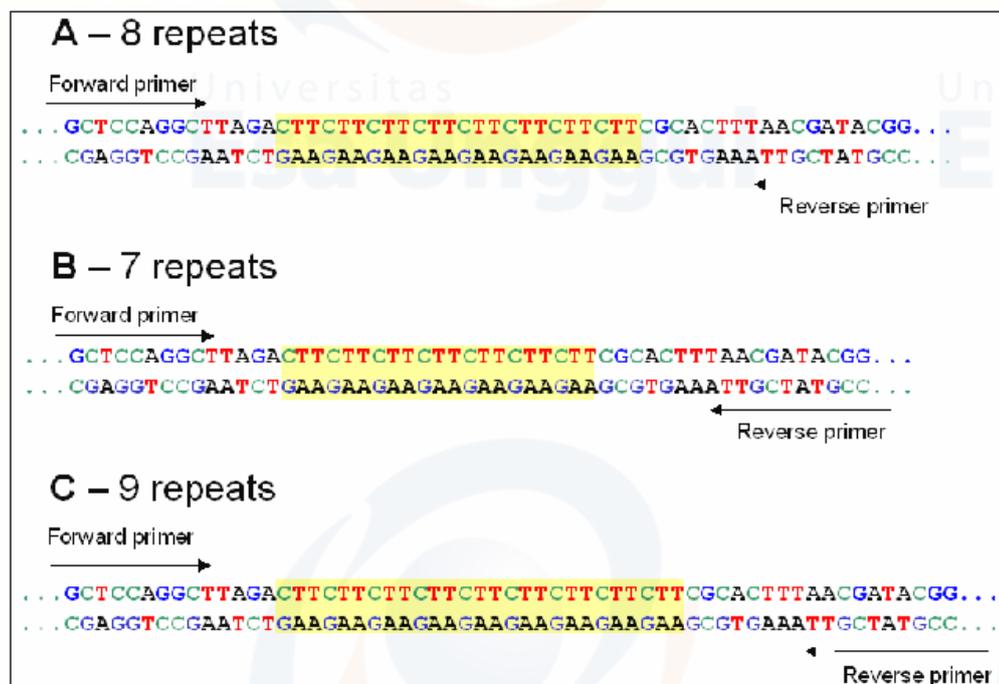
Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Short Tandem repeat
2. Menganalisis berbagai locus yang dapat digunakan dalam uji Short Tandem Repeats serta kit uji yang dapat digunakan pada uji DNA Forensik

B. Uraian

1. Pendahuluan

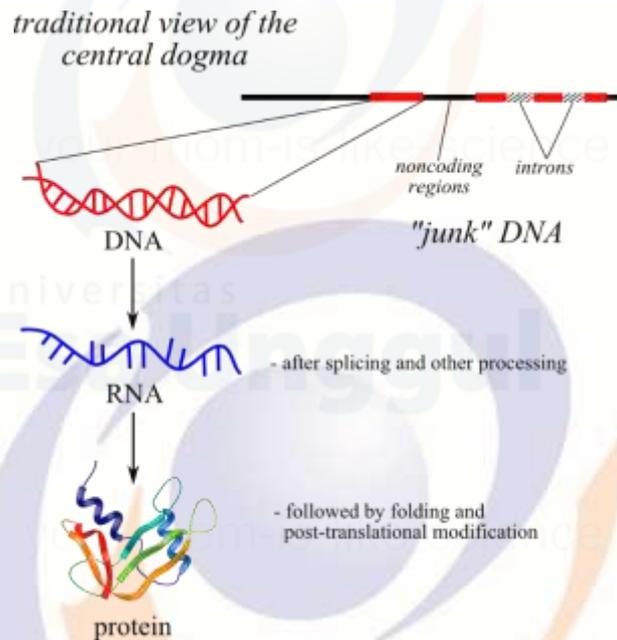
Mikrosatelit merupakan urutan basa N pada DNA, yang terdiri dari dua sampai tujuh basa N (disebut sebagai motif) yang berulang-ulang, dengan atau tanpa sela. Misalnya, motif GAG yang memiliki pengulangan 10 kali atau (GAG)₁₀ akan memiliki bentuk sebagai berikut: GAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG. Panjang pengulangan ini bervariasi tergantung individu/varietas dan diwariskan kepada generasi berikutnya. Mikrosatelit dikenal pula sebagai SSR atau *Simple Sequence Repeats*. Dalam bidang genetika manusia, khususnya dalam aplikasi di bidang kedokteran forensik, mikrosatelit dikenal sebagai STR atau *Short Tandem Repeats*.



Gambar 1. Beberapa sekuen dari Short Tandem Repeats

Short Tandem Repeats (STR), kadang-kadang disebut sebagai mikro-satelit atau Simple Sequence (SSR), merupakan adalah bentangan DNA yang mengandung unit pengulangan inti dengan panjang antara dua dan tujuh nukleotida yang diulang secara bersamaan dari kira-kira setengah lusin hingga beberapa lusin. Meskipun genom manusia mengandung ribuan penanda STR, hanya sekumpulan kecil lokus inti yang telah dipilih untuk digunakan dalam pengujian DNA forensik dan identitas manusia. Seperti menggunakan satu mata uang umum dalam arti finansial, lokus inti mengizinkan informasi genetik yang setara untuk dibagikan dan dibandingkan. Kit komersial sekarang tersedia untuk menghasilkan profil DNA yang mengandung lokus STR inti ini. Jutaan profil STR dibuat di seluruh dunia setiap tahun oleh pemerintah, universitas, dan laboratorium swasta yang melakukan berbagai bentuk pengujian identitas manusia, termasuk database DNA, kerja kasus forensik, identifikasi korban bencana massal / orang hilang, atau pengujian orang tua.

Mutasi dapat terjadi terhadap banyaknya pengulangan ini sehingga muncul variasi panjang pengulangan di dalam individu-individu dalam suatu spesies. Variasi ini membuat mikrosatelit dapat digunakan sebagai penanda genetik. Fungsi vital mikrosatelit masih diperdebatkan orang. Gejala pengulangan ini dapat dijumpai pada semua kelompok organisme hidup, termasuk bakteri. DNA plastida dan mitokondria pun memilikinya, sehingga mikrosatelit dianggap sebagai relik evolusi dari masa lalu. Secara logis, mikrosatelit dapat dianggap sebagai "alat keamanan" apabila terjadi kesalahan dalam proses transkripsi. Banyak mikrosatelit terletak pada bagian gen yang disebut intron, yang pada tahap pascatranskripsi akan dibuang, atau pada bagian nontranskripsi (*junk DNA*). Dengan demikian, transkripsi akan mengurangi jumlah protein yang tidak berfungsi akibat kesalahan pembacaan.



Gambar 2. Junk DNA yang meliputi non coding regions dan DNA intron

Karena terdapat variasi dalam cacah pengulangan motif (polimorfisme), dan cacah ini tetap untuk setiap individu atau populasi/kultivar tertentu, mikrosatelit dapat dipakai sebagai penanda genetik. Mikrosatelit sangat berlimpah dalam suatu genom, meskipun hanya sedikit dijumpai pada genom prokariota. Suatu gen dapat memiliki lebih dari dua mikrosatelit. Sebagai penanda, mikrosatelit bersifat kodominan dan dapat diketahui lokasinya pada DNA. Dengan demikian, SSR sesuai untuk mendeteksi heterozigositas. Pemanfaatannya tidak memerlukan waktu lama (dua hari). Karena berbagai keuntungan ini, mikrosatelit disukai sebagai penanda.

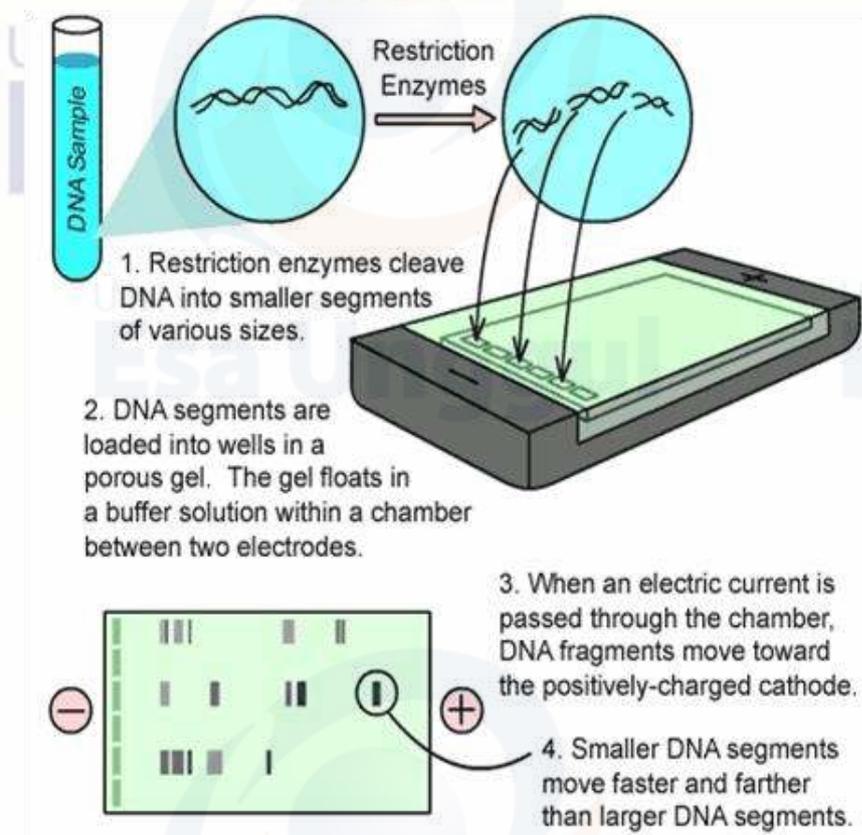
Mikrosatelit merupakan penanda berbasis PCR, sehingga memerlukan primer. Pembuatan primernya memerlukan informasi urutan basa sebelum dan sesudah mikrosatelit. Bangunan primer ini menjadikan penanda mikrosatelit dapat dilacak posisinya dalam suatu genom namun menjadikannya bersifat spesifik spesies (sukar dipertukarkan antarspesies) karena urutan basa yang mengapit mikrosatelit berbeda-beda untuk setiap spesies.

Metoda yang digunakan adalah meng-copy sequence STR kemudian digandakan oleh mesin PCR sehingga diperoleh informasi dari sejumlah kecil bahan biologis yang tersedia. Ukuran produk PCR yang relatif pendek sekitar 100-500 bp yang dihasilkan dengan pengujian STR umumnya kompatibel dengan DNA terdegradasi yang mungkin ada akibat pengaruh lingkungan terhadap biologis bukti yang ditemukan di TKP. Amplifikasi PCR dari beberapa lokus STR secara bersamaan, atau multiplexing, dimungkinkan dengan pewarna fluoresen warna berbeda dan produk PCR dengan ukuran berbeda. Penggunaan lokus ganda memungkinkan diskriminasi berdaya tinggi dalam satu pengujian tanpa

memerlukan banyak sampel DNA (sebesar 1 ng atau kurang). Perlu dicatat bahwa lokus STR inti ini terjadi di antara gen di mana tingkat variabilitas yang tinggi dapat ditoleransi dan dengan demikian tidak secara langsung bertanggung jawab atas ciri fisik seperti warna rambut atau warna mata atau penyakit genetik.

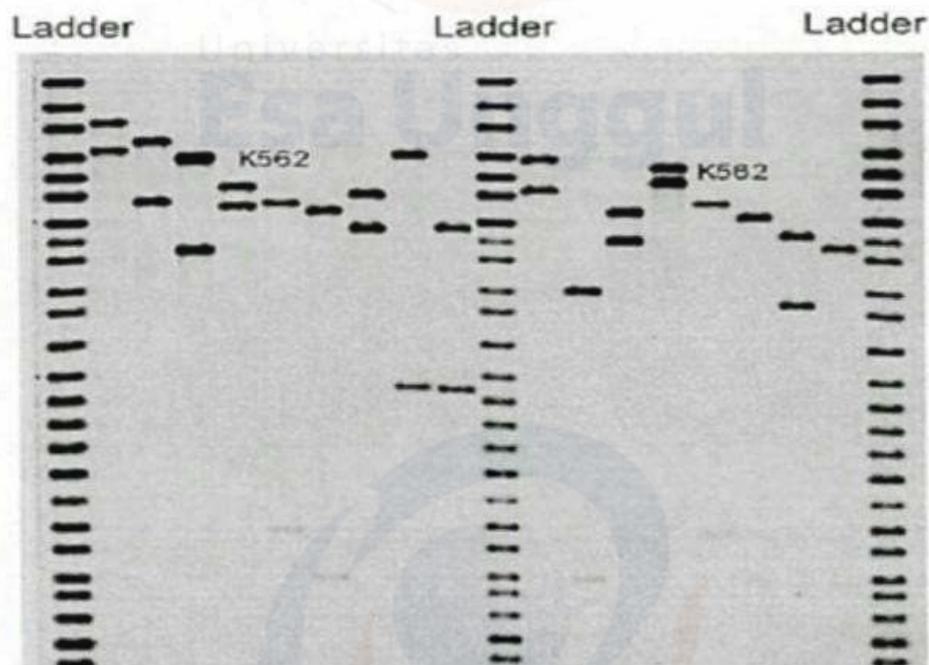
Kit Komersial

Kit yang tersedia secara komersial menyediakan primer yang telah dicampur sebelumnya dan campuran master standar yang mengandung polimerase, buffer enzim, dan dNTP, untuk menyederhanakan hasil profil STR dan memberikan hasil spesifik pada satu set lokus STR intim yang seragam sehingga memungkinkan penyeragaman pemecahan kasus kriminal secara nasional dan internasional Profil DNA. Kit komersial lebih disukai di sebagian besar laboratorium forensik daripada uji in-house meskipun kit ini lebih mahal, karena kit ini membantu menyederhanakan dan menstandarisasi prosedur dan menghilangkan beban kendali mutu komponen PCR serta para laboran di laboratorium forensic



Gambar 3. Alat Elektroforesis

Selain itu, kit STR memasok DNA ladder alel yang berisi alel STR umum yang sebelumnya telah dikarakterisasi melalui sekuensing DNA. DNA ladder ini digunakan untuk mengkalibrasi ukuran produk PCR ke nomor berulang STR untuk tujuan genotipe.



Gambar 4. Hasil elektroforesis STR yang dibandingkan panjang pitanya dengan DNA ladder

Proses lengkap untuk copy STR meliputi pengumpulan sampel, ekstraksi DNA, kuantitasi DNA, amplifikasi PCR dari beberapa lokus STR, pemisahan dan ukuran alel STR, peng-copy- an STR dan interpretasi profil, dan laporan signifikansi statistik dari suatu kecocokan. Dalam banyak situasi kerja kasus, seperti bukti kekerasan seksual, campuran DNA dapat dihasilkan dari kombinasi cairan tubuh korban dan pelaku dan menciptakan hasil yang kompleks dan menantang untuk ditafsirkan.

Setelah amplifikasi PCR, panjang keseluruhan amplicon STR diukur untuk menentukan jumlah STR yang banyak digunakan saat ini untuk aplikasi pengujian identitas manusia termasuk analisis DNA forensik. Setelah amplifikasi PCR multipleks, sampel DNA yang mengandung alel STR varian panjang biasanya dipisahkan dengan elektroforesis kapiler dan dibuat genotipe dengan perbandingan dengan DNA ladder yang disertakan dengan kit komersial.

Pengukuran panjang ini dilakukan melalui pemisahan berbasis ukuran yang melibatkan gel atau elektroforesis kapiler (CE). Setiap amplicon STR telah diberi label

dengan fluoresen selama PCR, karena primer khusus lokus maju atau mundur mengandung pewarna fluoresen. Jadi, dengan merekam warna pewarna dan waktu migrasi setiap fragmen DNA relatif terhadap standar ukuran internal, ukuran untuk setiap alel STR dapat ditentukan setelah pemisahannya dari alel STR lainnya. Instrumen yang umum digunakan untuk pemisahan dan ukuran alel STR adalah ABI PRISM 310 dan ABI PRISM 3100 penganalisis genetik (Applied Biosystems).

Ada sejumlah artefak biologis dan instrumental yang sering harus disortir untuk menghasilkan yang lengkap dan profil STR yang akurat. Artefak biologis termasuk produk gagal, puncak terbelah dari adenilasi tidak lengkap, pola triallelic, dan alel varian yang mengandung mutasi di daerah berulang atau mengapit yang menyebabkan alel menjadi off-ladder. Artefak instrumental muncul dari lonjakan tegangan, gumpalan pewarna, dan luntur antara warna pewarna. Sementara instrumentasi CE deteksi fluoresensi multiwarna, seperti penganalisis genetik ABI PRISM 3100, saat ini mendominasi lapangan, upaya terus dilakukan untuk mengembangkan platform microchip CE untuk melakukan pemisahan DNA resolusi tinggi dengan integrasi akhir amplifikasi PCR dan pemisahan CE. Selain itu, spektrometri massa (MS) dengan teknik desorpsi / ionisasi laser berbantuan matriks (MALDI) dan teknik ionisasi elektro spray (ESI) telah digunakan untuk pengetikan STR tanpa DNA ladder.

Kit MiniSTR merupakan kit yang mampu memulihkan DNA yang terpapar air dan/ atau panas sehingga akan terurai menjadi potongan-potongan kecil. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa DNA dapat dipulihkan secara lebih efektif dari sampel yang degradasi DNA sehingga produk PCR lebih kecil. Teknik mendekatkan primer PCR ke daerah pengulangan STR, ukuran produk dapat dikurangi dengan tetap mempertahankan informasi yang sama. Kegunaan tes miniSTR telah dikonfirmasi dalam penelitian intra dan antar laboratorium yang melibatkan sampel tulang yang terdegradasi dan noda darah dan saliva yang menua.

Tingkat keberhasilan telah diujikan lebih baik dalam memulihkan sampel DNA yang rusak dengan kit miniSTR dibandingkan dengan kit STR konvensional. Proses pengembangan mini STR dapat ditemukan di laman web www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/miniSTR/timeline.htm. Dengan menggunakan teknologi pengubah kimia dan mobilitas 5-pewarna, Applied Biosystems telah mengembangkan kit miniSTR yang mampu memperkuat delapan lokus STR inti dan amelogenin dengan ukuran produk PCR yang dikurangi relatif terhadap perangkat komersial saat ini. Kit MiniFiler AmpFISTR ini, yang mencakup campuran master PCR yang ditingkatkan, akan membantu upaya untuk memulihkan hasil dari sampel DNA yang terdegradasi. Namun, penting untuk diingat bahwa karena primer PCR yang berbeda digunakan dengan kit miniSTR

dibandingkan dengan kit STR sebelumnya, hasil yang berbeda dapat terjadi karena mutasi lokasi pengikatan primer yang menyebabkan putusnya alel.

Lokus STR

Genom manusia penuh dengan urutan DNA berulang. Urutan DNA terdapat dalam berbagai ukuran dan diklasifikasikan sesuai dengan panjang unit inti, jumlah unit berulang terletak berdekatan, dan atau panjang keseluruhan wilayah. daerah DNA dengan unit berulang pendek biasanya berukuran sekitar 2-6 pasang basa dan disebut dengan istilah Short Tandem Repeats (STR). STR yang ditemukan mengelilingi kromosom sentromer (pusat struktur kromosom). STR telah terbukti memiliki beberapa manfaat yang membuat mereka sangat cocok untuk identifikasi manusia.

STR telah menjadi penanda DNA populer karena mereka mudah diperkuat dengan polymerase chain reaction (PCR) tanpa masalah amplifikasi diferensial; yaitu, produk PCR untuk STR umumnya serupa dalam jumlah, membuat analisis lebih mudah. Seorang individu mewarisi satu salinan dari STR dari setiap orangtua, yang mungkin atau mungkin tidak memiliki ukuran yang berulang yang sama. Jumlah pengulangan penanda STR dapat sangat bervariasi antara individu, yang membuat STR ini efektif untuk tujuan identifikasi manusia.

Untuk tujuan identifikasi manusia, adalah penting untuk memiliki penanda DNA yang menunjukkan variasi tertinggi untuk membedakan antara sampel. Hal ini sering menantang untuk mendapatkan produk amplifikasi PCR dari sampel forensik karena baik DNA dalam contoh tersebut adalah terdegradasi, atau dicampur, seperti dalam kasus penyerangan seksual.

Ukuran yang lebih kecil dari alel STR membuat calon STR penanda yang lebih baik untuk digunakan dalam aplikasi forensik, di mana secara umum kondisi DNA terdegradasi. PCR amplifikasi sampel DNA terdegradasi dapat lebih baik dicapai dengan ukuran target produk yang lebih kecil.

Karena ukurannya yang lebih kecil, alel STR juga dapat dipisahkan dari lokasi kromosom lain yang lebih easlyto memastikan erat lokus terkait tidak dipilih. lokus erat tidak mengikuti pola diprediksi distribusi acak dalam populasi, membuat analisis statistik sulit. alel STR juga memiliki tingkat mutasi yang lebih rendah, yang membuat data lebih stabil dan dapat diprediksi. Karena karakteristik ini, STR dengan daya yang lebih tinggi dari diskriminasi yang dipilih untuk identifikasi manusia dalam kasus forensik secara teratur. Hal ini digunakan untuk mengidentifikasi korban, pelaku, orang hilang, dan lain-lain.

Dimulai pada tahun 1996, Laboratorium FBI meluncurkan upaya ilmu forensik untuk membangun STR lokus inti untuk dimasukkan dalam database nasional yang dikenal

sebagai CODIS (Sistem Indeks Gabungan DNA). 13 CODIS lokus yaitu CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 dan D21S11. lokus ini secara nasional dan diakui secara internasional sebagai standar untuk identifikasi manusia. DDC Laboratorium Forensik rutin menggunakan 13 CODIS lokus dan memiliki lokus tambahan untuk Standar pengujian STR yang luas dan kuat jika diperlukan

Database DNA yang efektif sedang dibangun dan banyak kasus forensik diselesaikan hari ini melalui pembuatan profil STR dengan seperangkat penanda genetik yang sama. Lokus inti saat ini telah dan akan terus memainkan peran penting dalam pengujian identitas manusia.

Tabel 1 Lokus STR yang digunakan untuk identifikasi

STR Loci	Chromosomal Location	Repeat Motif	Allele Range ^a	PCR Product Sizes in Identifier Kit (dye label)
CSF1PO	5q33.1	TAGA	6–15	305–342 bp (6-FAM)
FGA	4q31.3	CTTT	17–51.2	215–355 bp (PET)
TH01	11p15.5	TCAT	4–13.3	163–202 bp (VIC)
TPOX	2p25.3	GAAT	6–13	222–250 bp (NED)
VWA	12p13.31	[TCTG] [TCTA]	11–24	155–207 bp (NED)
D3S1358	3p21.31	[TCTG] [TCTA]	12–19	112–140 bp (VIC)
D5S818	5q23.2	AGAT	7–16	134–172 bp (PET)
D7S820	7q21.11	GATA	6–15	255–291 bp (6-FAM)
D8S1179	8q24.13	[TCTA] [TCTG]	8–19	123–170 bp (6-FAM)
D13S317	13q31.1	TATC	8–15	217–245 bp (VIC)
D16S539	16q24.1	GATA	5–15	252–292 bp (VIC)
D18S51	18q21.33	AGAA	7–27	262–345 bp (NED)
D21S11	21q21.1	[TCTA] [TCTG]	24–38	185–239 bp (6-FAM)
D2S1338	2q35	[TGCC] [TTCC]	15–28	307–359 bp (VIC)
D19S433	19q12	AAGG	9–17.2	102–135 bp (NED)
Amelogenin (sex-typing)	Xp22.22 Yp11.2	Not applicable	Not applicable	X = 107 bp (PET) Y = 113 bp (PET)

Analisis hasil Uji STR

Beberapa alel STR mengandung variasi urutan dalam daerah mengikat. Jika perubahan nukleotida (atau penyisipan atau penghapusan) terjadi di situs pengikatan primer PCR dalam alel tertentu, maka ada kemungkinan urutan mutan tidak sesuai dengan anil primer dan alel varian akan gagal memperkuat. Putusnya alel ini terkadang disebut sebagai alel nol. Sampel yang benar-benar heterozigot mungkin muncul sebagai homozigot yang nyata jika primer PCR gagal membekukan dan memperkuat alel yang mengandung mutasi titik.

Dalam beberapa kasus, alel nol dapat dipulihkan dengan menurunkan suhu anil, memungkinkan pengikatan yang kurang ketat antara primer dan cetakan DNA. Sebuah studi konkordansi, yang menguji satu set sampel DNA yang sama dengan primer PCR yang tidak tumpang tindih, memungkinkan deteksi alel nol. Sebuah penelitian MiniFiler versus Identifiler menemukan hanya 27 perbedaan di lebih dari 10.000 genotipe yang dibandingkan. Selama primer PCR yang sama digunakan, hasil pengetikan STR yang identik dapat diharapkan pada sampel DNA yang sama. Namun, jika posisi primer diubah, maka ada kemungkinan terjadi dropout alel atau pergeseran ukuran. Dalam beberapa kasus, primer ekstra yang cocok dengan alel mutan (sering disebut sebagai primer degenerasi) dapat dimasukkan dalam campuran primer kit untuk memungkinkan pemulihan amplifikasi PCR ketika terdapat alel varian yang mengandung ketidakcocokan pada lokasi pengikatan primer.

Metode profiling DNA digunakan saat ini didasarkan pada PCR dan menggunakan mengulangi tandem pendek (STR). Metode ini menggunakan daerah-daerah yang sangat polimorfik yang pendek diulang urutan DNA (yang paling umum adalah 4 basa berulang, tetapi ada panjang lain digunakan, termasuk 3 dan 5 basis). Karena orang-orang yang tidak terkait hampir pasti memiliki perbedaan jumlah unit berulang, STR dapat digunakan untuk membedakan antara individu yang tidak berhubungan. Ini STR lokus (lokasi pada kromosom) ditargetkan dengan primer-urutan tertentu dan diperkuat dengan menggunakan PCR. Fragmen DNA yang dihasilkan kemudian dipisahkan dan dideteksi dengan menggunakan elektroforesis. Ada dua metode umum pemisahan dan deteksi, elektroforesis kapiler (CE) dan gel elektroforesis.

Setiap STR adalah polimorfik, tetapi jumlah alel sangat kecil. Biasanya masing-masing alel STR akan dibagi oleh sekitar 5 - 20% dari individu. Kekuatan analisis STR berasal dari melihat beberapa lokus STR secara bersamaan. Pola alel dapat mengidentifikasi individu cukup akurat. Analisis sehingga STR menyediakan alat identifikasi yang sangat baik. Semakin banyak daerah STR yang diuji dalam individu yang lebih membedakan tes menjadi.

Dari satu negara ke negara, sistem DNA-profil STR berbasis berbeda sedang digunakan. Di Amerika Utara, sistem yang memperkuat CODIS 13 lokus inti hampir universal, sedangkan di Inggris yang SGM + sistem lokus 11 (yang kompatibel dengan The National DNA database), sedang digunakan. Apapun sistem yang digunakan, banyak daerah STR yang digunakan adalah sama. Sistem DNA-profil ini didasarkan pada reaksi multiplex, dimana banyak daerah STR akan diuji pada waktu yang sama.

Kekuatan sebenarnya dari analisis STR adalah kekuatan statistik yang diskriminasi. Karena 13 lokus yang saat ini digunakan untuk diskriminasi dalam CODIS

yang independen berbagai macam (memiliki sejumlah mengulangi pada satu lokus tidak mengubah kemungkinan memiliki sejumlah mengulangi pada setiap lokus lainnya), aturan produk untuk probabilitas dapat diterapkan. Ini berarti bahwa, jika seseorang memiliki jenis DNA dari ABC, di mana tiga lokus yang independen, kita dapat mengatakan bahwa kemungkinan memiliki jenis DNA adalah kemungkinan memiliki tipe A kali kemungkinan memiliki tipe B kemungkinan memiliki tipe C. Hal ini menyebabkan kemampuan untuk menghasilkan probabilitas pertandingan dalam 1 triliun (1×10^{18}) atau lebih. Namun, pencarian basis data DNA menunjukkan jauh lebih sering dari yang diharapkan palsu pertandingan profil DNA. Selain itu, karena ada sekitar 12 juta kembar monozigot di Bumi, kemungkinan teoritis tidak akurat.

Dalam prakteknya, risiko terkontaminasi-matching jauh lebih besar daripada pencocokan relatif jauh, seperti kontaminasi sampel dari benda-benda di dekatnya, atau dari kiri-atas sel ditransfer dari tes sebelumnya. Risikonya lebih besar untuk pencocokan orang yang paling umum dalam sampel: Semuanya dikumpulkan dari, atau kontak dengan, korban merupakan sumber utama kontaminasi untuk setiap sampel lainnya dibawa ke laboratorium. Untuk itu, beberapa kontrol sampel biasanya diuji untuk memastikan bahwa mereka tetap bersih, ketika disiapkan selama periode yang sama sebagai sampel tes yang sebenarnya.

Pertandingan yang tak terduga (atau variasi) di beberapa kontrol sampel menunjukkan probabilitas tinggi kontaminasi untuk sampel tes yang sebenarnya. Dalam tes hubungan, profil DNA penuh harus berbeda (kecuali untuk kembar), untuk membuktikan bahwa seseorang tidak benar-benar cocok sebagai terkait dengan DNA mereka sendiri dalam sampel lain.

Perspektif Masa Depan STR

Pembuatan profil DNA forensik menggunakan penanda autosomal short tandem repeat (STR) untuk menetapkan identitas orang hilang, mengkonfirmasi hubungan keluarga, dan menghubungkan orang yang berkepentingan dengan kejahatan adegan. Ini adalah gagasan yang diterima secara luas bahwa penanda genetik digunakan dalam aplikasi forensik tidak dapat memprediksi fenotipe. Saat ini, belum ada demonstrasi forensik

Varian STR yang secara langsung menyebabkan atau memprediksi penyakit. Demonstrasi seperti itu akan terjadi banyak implikasi hukum dan etika. Misalnya, apakah ada kewajiban memberi tahu donor DNA jika kondisi medis ditemukan selama analisis rutin sampel mereka? STR forensik dapat memberikan informasi lebih dari sekedar identitas.

meningkat seiring dengan fungsi dari non-coding STRs dalam ekspresi gen yang terus terungkap.

Dianjurkan agar peninjauan rutin dilakukan untuk tetap mengetahui masa depan studi yang mengidentifikasi peran fungsional untuk setiap STR forensik. dicatat hampir 7 tahun yang lalu oleh Kelompok Kerja Penelitian dan Pengembangan Komisi Nasional untuk Masa Depan Bukti DNA, STR mungkin akan menjadi penanda pilihan di masa mendatang karena penggunaannya yang luas dalam DNA nasional database. Kita mungkin akan melihat perkembangan evolusioner dalam teknologi pengetikan, metode amplifikasi yang lebih cepat, kit STR tambahan yang berisi lokus baru, dan program komputer yang akan memungkinkan evaluasi cepat data pengetikan STR. Melalui kemajuan yang berkelanjutan, teknologi pengetikan STR dapat menjadi miniatur dan terintegrasi dengan bagian lain dari proses, seperti ekstraksi dan amplifikasi DNA.

Menggunakan PCR teknologi, analisis DNA secara luas diterapkan untuk menentukan hubungan keluarga genetik seperti ayah, bersalin, sibblingship dan kinships lainnya. Selama pembuahan, sel sperma ayah dan sel telur ibu, masing-masing berisi setengah jumlah DNA yang ditemukan dalam sel-sel tubuh lainnya, bertemu dan sekering untuk membentuk telur dibuahi, disebut zigot. Zigot berisi satu set lengkap molekul DNA, kombinasi yang unik dari DNA dari kedua orang tuanya. Zigot ini membagi dan mengalikan menjadi embrio dan kemudian, manusia penuh.

Pada setiap tahap perkembangan, semua sel yang membentuk tubuh mengandung DNA yang sama-setengah dari ayah dan setengah dari ibu. Hal ini memungkinkan pengujian hubungan menggunakan semua jenis dari seluruh sampel termasuk sel lepas dari pipi dikumpulkan menggunakan penyeka bukal, darah atau jenis sampel.

Sementara banyak DNA berisi informasi untuk fungsi tertentu, ada beberapa yang disebut junk DNA, yang saat ini digunakan untuk identifikasi manusia. Pada beberapa lokasi khusus (disebut lokus) dalam DNA sampah, pola warisan diprediksi telah ditemukan untuk menjadi berguna dalam menentukan hubungan biologis. Lokasi ini berisi penanda DNA spesifik bahwa para ilmuwan DNA digunakan untuk mengidentifikasi individu. Dalam tes DNA DNA rutin, tanda-tanda yang digunakan adalah pendek Tandem Repeats (STR), potongan pendek DNA yang terjadi dalam pola berulang yang sangat berbeda di antara individu.

DNA setiap orang mengandung dua salinan dari tanda tersebut-satu salinan diwarisi dari ayah dan satu dari ibu. Dalam populasi, penanda di lokasi DNA setiap orang bisa berbeda dalam panjang dan kadang-kadang urutan, tergantung pada penanda yang diwarisi dari orang tua. Kombinasi ukuran penanda yang ditemukan di setiap orang membuat / profil genetik uniknya. Ketika menentukan hubungan antara dua individu, profil

genetik mereka dibandingkan untuk melihat apakah mereka berbagi pola warisan yang sama pada tingkat statistik konklusif.

Sebagai contoh, laporan contoh berikut ini dari DNA pengujian paternitas laboratorium komersial Universal Genetika menandakan bagaimana keterkaitan antara orang tua dan anak-anak teridentifikasi pada orang-orang penanda khusus: Hasil parsial menunjukkan bahwa anak dan pertandingan DNA dugaan ayah di antara lima sidol. Hasil tes menunjukkan korelasi yang lengkap ini pada 16 penanda antara anak dan orang diuji untuk menarik kesimpulan apakah atau tidak orang itu adalah ayah biologis.

Setiap marker diberikan dengan Indeks Tua (PI), yang merupakan ukuran statistik seberapa kuat pertandingan di penanda tertentu menunjukkan ayah. PI masing-masing marker dikalikan dengan satu sama lain untuk menghasilkan Paternity Indeks Gabungan (CPI), yang menunjukkan probabilitas keseluruhan seorang individu menjadi ayah biologis dari anak relatif diuji untuk setiap orang secara acak dari seluruh penduduk dari ras yang sama. CPI tersebut kemudian diubah menjadi Probabilitas Ayah menunjukkan tingkat keterkaitan antara dugaan ayah dan anak.

Laporan tes DNA dalam tes hubungan keluarga lainnya, seperti grandparentage dan siblingship tes, mirip dengan laporan tes DNA. Alih-alih Paternity Indeks Gabungan, nilai yang berbeda, seperti Indeks Siblingship, dilaporkan.

Laporan ini menunjukkan profil genetik dari setiap orang diuji. Jika ada penanda dibagi di antara individu-individu yang diuji, kemungkinan hubungan biologis dihitung untuk menentukan seberapa besar kemungkinan individu diuji berbagi penanda yang sama karena hubungan darah.

Analisa kromosom Y

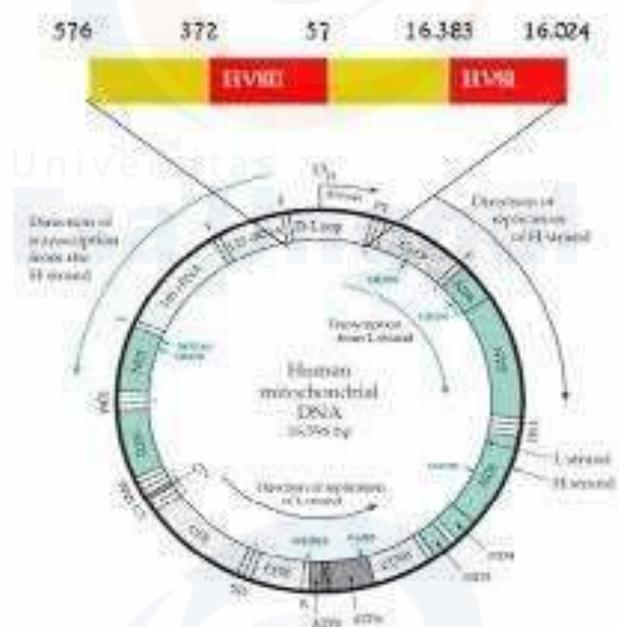
Ovasi terbaru termasuk penciptaan primer menargetkan daerah polimorfik pada kromosom Y (Y-STR), yang memungkinkan resolusi sampel DNA campuran dari kasus pria dan wanita atau di mana ekstraksi diferensial tidak mungkin. Y-kromosom dari ayah diwariskan, sehingga analisis Y-STR dapat membantu dalam identifikasi laki-laki dari ayah terkait. Analisis Y-STR dilakukan di Sally Hemings kontroversi untuk menentukan apakah Thomas Jefferson telah menjadi bapak anak dengan salah satu budaknya.

Analisis kromosom Y memberikan hasil yang lebih lemah dari analisis kromosom autosomal. Kromosom Y seks menentukan laki-laki, seperti yang diwariskan hanya oleh laki-laki dari ayah mereka, hampir identik sepanjang garis patrilineal. Hal ini menyebabkan analisis kurang tepat daripada jika kromosom autosomal yang menguji, karena pencocokan acak yang terjadi antara pasang kromosom sebagai zigot yang sedang dibuat.

Analisis mitokondria

Untuk sampel yang rusak, kadang-kadang tidak mungkin untuk mendapatkan profil lengkap dari 13 CODIS STR. Dalam situasi ini, DNA mitokondria (mtDNA) kadang-kadang diketik karena ke sana menjadi banyak salinan mtDNA dalam sel, sementara ada mungkin hanya 1-2 salinan DNA nuklir. Ilmuwan forensik memperkuat HV1 dan wilayah HV2 dari mtDNA, dan kemudian urutan masing-masing daerah dan membandingkan perbedaan nukleotida tunggal untuk referensi. Karena mtDNA maternal diwariskan, kerabat ibu langsung terkait dapat digunakan sebagai referensi pertandingan, seperti putra putri satu nenek dari pihak ibu yang itu.

Secara umum, perbedaan dari dua atau lebih nukleotida dianggap pengecualian. heteroplasmia dan perbedaan poli-C dapat membuang perbandingan urutan lurus, sehingga beberapa keahlian pada bagian analisis diperlukan. mtDNA berguna dalam menentukan identitas yang jelas, seperti orang hilang ketika seorang kerabat maternal terkait dapat ditemukan. pengujian mtDNA digunakan dalam menentukan bahwa Anna Anderson bukanlah putri Rusia ia mengaku, Anastasia Romanov . mtDNA dapat diperoleh dari bahan seperti poros rambut dan tulang tua / gigi. Mekanisme kontrol berdasarkan titik interaksi dengan data. Hal ini ditentukan oleh penempatan tool dalam sampel.



Gambar 5. Sekuen STR pada mitokondria

Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing *BioTechniques* 43:Sii-Sv



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 4

Topik :

Short Tandem Repeat : eksaminasi sumber material biologis

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Short Tandem Repeat : eksaminasi sumber material biologis

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian eksaminasi sumber material biologis
2. Menganalisis berbagai teknik ekasaminaso sumber material biologis

B. Uraian

1. Pendahuluan

Analisis forensik terus dikembangkan seiring dengan kemajuan sains dan teknologi. Aplikasinya meluas, meliputi segala lini dan kasus untuk membantu pembuktian dalam penyelidikan kasus hukum. Salah satu di antara kasus yang memerlukan bukti forensik adalah keraguan terhadap status keayahan sebab diperlukan adanya upaya eksklusi terhadap seseorang yang diduga sebagai orang tua biologis dari seorang anak.

Uji DNA forensic memerlukan hasil yang presisi sehingga dapat dipertanggungjawabkan keabsahan hasilnya. Teknik dalam isolasi DNA dari sampel sangat menentukan keakurasian data, sehingga dapat memberikan hasil uji yang sangat akurat. Terlebih teknik eksaminasi sampel biologis sangat diperlukan kehati-hatian dengan teknik yang tidak akan merusak sampel dan merusak DNA yang akan diisolasi dan diuji.

Terdapat beberapa sampel yang akan ditemukan di lapangan antara lain, sampel basah, sampel kering, sampel terbakar, sampel yang tercampur dengan material lainnya, sampel yang sangat sedikit, dan masih banyak lagi kondisi sampel lainnya yang membutuhkan teknik tersendiri. Sebab, berbagai peristiwa dapat menyebabkan terjadinya hal yang mengharuskan para ahli forensic menguji DNA dari sampel dalam kondisi apapun. Teknik sampling dalam berbagai kondisi bahkan dalam kondisi cuaca buruk dengan sampel yang sulit diisolasi, tidak seperti halnya pengambilan sampel dari bahan material di laboratorium, misal sampel dari hewan coba yang dapat kita kondisikan untuk memudahkan pengambilan sampel, pengambilan sampel dari sel punca atau mikroba yang kita kultur dengan kondisi lingkungan yang dapat kita atur sehingga kita mendapatkan sampel isolasi yang cukup banyak dan memudahkan kita untuk uji selanjutnya.



Gambar 1. Korban kecelakaan pesawat dan proses pengambilan sampel biologis

Beberapa kasus dalam kejadian tertentu memerlukan langkah eksaminasi tertentu pula. Misal uji DNA forensic pada peristiwa pencemaran dan kerusakan lingkungan. Kecelakaan, criminal, dan kasus lainnya.

2. Prosedur pengambilan sampel biologis

Barang bukti material Biologi dalam pemeriksaan forensic antara lain mencakup darah kering, darah segar, dan jaringan tubuh, rambut, air mani/sperma, saliva/air liur, tumbuh-tumbuhan, polen, mikro organisme dalam tanah, dan daging hewan. Kseluruhan sampel biologi memiliki prosedural eksaminasi sampel yang berbeda.



Gambar 2. Tim Forensik mengambil sampel darah dari korban kecelakaan

Pemeriksaan barang bukti material biologi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 64 Prosedur Pengambilan Sampel Kepolisian Republik Indonesia, wajib memenuhi persyaratan formal sebagai berikut:

- a. permintaan tertulis dari kepala kesatuan kewilayahan atau kepala/pimpinan instansi;
- b. laporan polisi;
- c. BAP saksi/tersangka atau laporan kemajuan;
- d. BA pengambilan, penyitaan, penyisihan, dan pembungkusan barang bukti; dan
- e. *Visum et Repertum* atau surat pengantar dokter forensik bila korban meninggal atau riwayat kesehatan (*medical record*) bila korban masih hidup.

Pada pemeriksaan barang bukti darah dan jaringan tubuh sebagaimana dimaksud dalam Pasal 64 ayat (2) huruf a wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, yaitu darah dan jaringan tubuh diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti darah dan jaringan tubuh; darah dan jaringan tubuh pada serpihan kecil, dikirim dalam keadaan kering; Jaringan tubuh yang terdapat pada gigi dan tulang dari kerangka manusia, dikirim beserta gigi dan tulangnya dalam keadaan kering; Jaringan tubuh yang terdapat pada gigi dan tulang dari mayat, setelah telah ditempatkan dalam wadah, wadahnya dimasukkan kedalam *Ice Box* yang telah diisi es batu; dan sampel darah tidak boleh terkontaminasi atau terkena sinar matahari.

Untuk mengetahui adanya darah korban dan tersangka pada pakaian korban, maka pakaian korban harus dikirim, dan tersangka yang terluka diperiksa golongan darahnya di laboratorium atau klinik rumah sakit/pusat kesehatan masyarakat (Puskesmas). Pada setiap barang bukti dimasukkan ke dalam wadah secara terpisah, dibungkus, diikat, dilak, disegel dan dilabel untuk segera dikirim ke Labfor Polri. Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti darah dan jaringan tubuh maka dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP (Tempat Kejadian Perkara).

Tata cara pengambilan barang bukti darah dan jaringan tubuh sebagaimana dimaksud dalam Pasal 64 ayat (2) huruf a, adalah sebagai berikut:

a. darah segar

Proses pengambilan sampel darah harus menggunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi. Agar sampel terambil optimal maka tekan permukaan darah dengan sepotong kertas saring atau kain kasa/kain putih yang bersih, sehingga darah terserap, jika sampel darah ditemukan di beberapa lokasi, maka pada setiap lokasi digunakan kertas saring atau kain kasa/kain putih tersendiri. Darah yang telah diserap dikeringkan di

ruang terbuka dengan di angin-anginkan tanpa menggunakan alat pengering dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari, untuk selanjutnya serapan darah yang diambil dari masing-masing lokasi dimasukkan secara terpisah ke dalam amplop/sampul atau wadah/kantong plastik, kemudian dibungkus dan masing-masing diikat dilak, disegel, dan diberi label.

Jika yang diambil adalah sampel darah kering, maka tetap gunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi, pengambilan dilakukan dengan mengerik darah kering dengan menggunakan alat kerik yang tajam dan bersih. Selanjutnya kerikan darah ditampung pada sehelai kertas putih bersih kemudian dilipat dan dimasukkan ke dalam amplop yang diberi label. Jika sampel darah kering ditemukan lebih dari satu lokasi darah kering, setiap lokasi menggunakan alat kerik yang berbeda, tidak menggunakan yang bekas. Hasil kerikan dari setiap lokasi yang berbeda ditampung secara terpisah.

Jika bercak darah kering yang ditemukan lainnya telah menjadi tipis dan sulit untuk dikerik, maka langkah yang dilakukan adalah dengan mengambil sepotong kain katun putih dan membasahi kain tersebut dengan air suling/*aquadest* sampai lembab dan kain basah tersebut disapukan pada permukaan bercak darah, sehingga bercak darah terserap. Serapan darah dikeringkan di ruang terbuka dengan di angin-anginkan tanpa menggunakan alat pengering dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari, kemudian serapan dimasukkan dalam amplop/sampul kemudian diikat dilak, disegel, dan diberi label.



Gambar 3. Pengambilan darah sampel

b. Jaringan tubuh

Jika sampel Biologi berupa jaringan tubuh (pada kulit, gigi, tulang, dan sebagainya), maka tetap gunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi, jaringan tubuh yang berasal dari mayat, diambil oleh dokter forensik, pilih jaringan tubuh yang belum mengalami pembusukan lanjut. Apabila mayat telah mengalami pembusukan lanjut, ambil gigi berakar tiga (geraham) dan tulang. Sampel tulang dan gigi dari TKP kebakaran atau ledakan, ambil

serpihan-serpihan jaringan yang ditemukan di TKP; dan masing-masing jaringan tubuh dimasukkan kedalam kantong plastik yang berbeda, diikat dilak, disegel, dan diberi label.



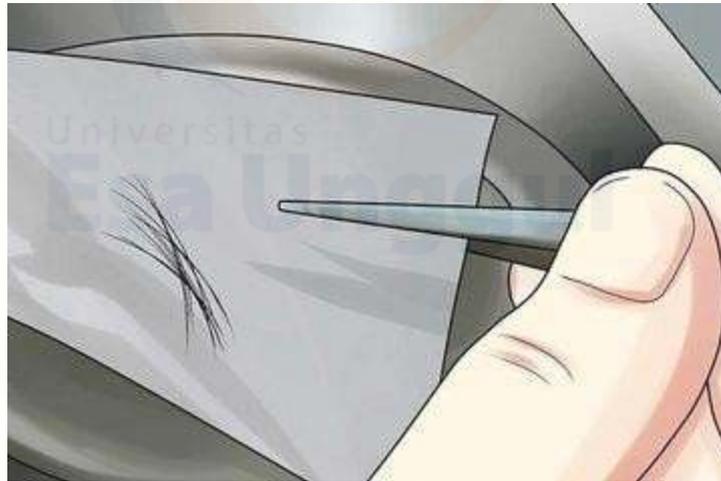
Gambar 4. Pengambilan sampel dari bagian tubuh korban

c. Sampel Rambut

Pemeriksaan barang bukti rambut wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut: rambut diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti rambut sebagaimana dimaksud dalam pasal 69 peraturan ini; rambut dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan kedalam amplop dan diberi label; apabila terdapat beberapa rambut, gunakan lipatan kertas putih yang berbeda; diperlukan bahan pembanding rambut tersangka/korban, dengan jumlah paling sedikit 3 helai rambut berikut akarnya; rambut pembanding dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label, dan segera dikirim ke Labfor Polri. Jika penyidik tidak dapat mengambil barang bukti rambut sebagaimana dimaksud dalam huruf a, dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Sedangkan tata cara pengambilan barang bukti rambut sebagaimana dimaksud apabila ditemukan rambut di TKP atau tempat lain yang terkait dengan kejadian perkara, dilakukan langkah-langkah sebagai berikut, maka angkat rambut dengan hati-hati dari permukaan objek dengan menggunakan pinset; rambut dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan kedalam amplop dan diberi label. Apabila terdapat beberapa rambut, gunakan lipatan kertas putih yang berbeda; kertas lipatan tersebut masukkan ke dalam amplop/sampul lalu diberi label. Apabila rambut diduga terdapat pada kemaluan korban (dalam kasus perkosaan, dan pembunuhan dengan pemerkosaan), dilakukan langkah-langkah sebagai berikut, sisir rambut kemaluan korban (minta bantuan suster petugas wanita atau korban sendiri) secara hati-hati dengan sisir yang bersih; dan

rambut yang terkumpul dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan ke dalam amplop kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label.



Gambar 5. Cara pengambilan sampel Rambut dari korban

d. Air mani/sperma

Pemeriksaan barang bukti air mani/sperma wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut yaitu air mani/sperma diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti air mani/sperma. Jika air mani/sperma dalam keadaan kering, maka air mani/sperma yang menempel pada barang yang mudah diangkat (antara lain baju, sprei, sarung bantal, dan handuk), dikirimkan beserta barangnya. Sedangkan air mani/sperma yang menempel pada barang yang sulit diangkat (antara lain kasur dan karpet), maka dikirimkan bagian yang ada air mani/spermanya.

Jika air mani/sperma yang terdapat pada lantai, dikeringkan dan dikerik dengan alat yang tajam yang bersih, dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan ke dalam amplop/sampul serta diberi label; setiap barang bukti dijaga agar tidak terkontaminasi, dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label. Apabila ditemukan air mani/sperma pada bagian tubuh korban hidup (paha dan vagina) agar meminta bantuan suster/dokter bidan Puskesmas setempat guna mengambil/mengumpulkan barang bukti air mani/sperma tersebut.

Pada pengambilan sampel ini juga diperlukan bahan pembanding air mani/sperma tersangka dan air mani/sperma pembanding dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label dan segera dikirim ke Labfor Polri. Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti air mani/sperma maka dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Tata cara pengambilan barang bukti air mani/sperma adalah sebagai berikut. Jika ditemukan pada benda yang mudah diangkat seperti pada pakaian dalam dan luar, sprei,

sarung bantal, dan handuk maka seluruh barang dikumpulkan dan dipilahkan masing-masing benda tersebut. Apabila benda-benda tersebut basah atau lembab keringkan dahulu dengan cara mengangin-anginkan sebelum dibungkus. Jika ditemukan pada benda yang sulit diangkat seperti kasur atau karpet, maka gunting bagian kasur atau karpet yang mengandung air mani dengan hati-hati.

Hasil guntingan kasur atau karpet yang mengandung air mani tersebut dimasukkan ke dalam sampul. Sedangkan air mani yang ditemukan pada benda yang sulit diangkat seperti lantai, maka gunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi dan kerik air mani/sperma dengan menggunakan alat yang tajam dan bersih. Hasil kerikan air mani/sperma ditampung pada sehelai kertas putih bersih kemudian dilipat dan dimasukkan ke dalam amplop, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label. Jika ditemukan lebih dari satu lokasi air mani/sperma, setiap lokasi menggunakan alat tajam yang berbeda, tidak menggunakan yang bekas. Hasil kerikan dari setiap lokasi yang berbeda ditampung secara terpisah.



Gambar 6. Pengambilan sampel sperma korban

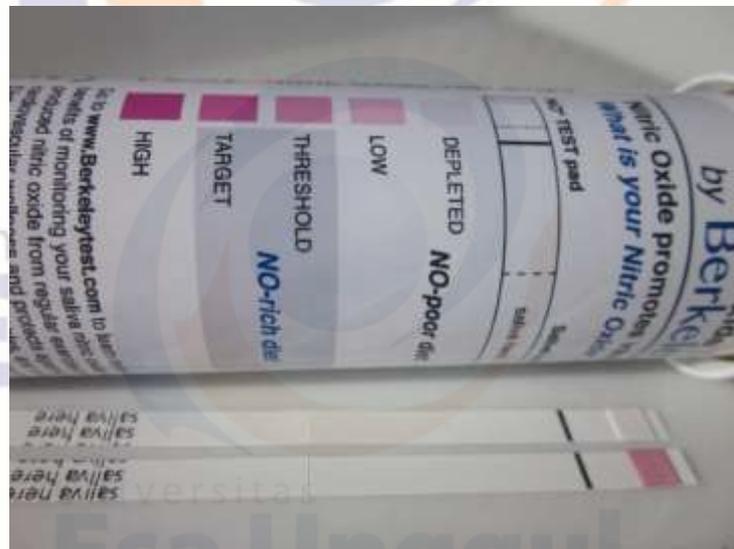
e. Sampel saliva/air liur

Pemeriksaan barang bukti saliva/air liur wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, saliva/air liur diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti Saliva/air liur. Saliva/air yang terdapat pada barang yang dapat diangkat seperti puntung rokok, diangkat seluruh barangnya, Jika saliva/air yang terdapat pada barang yang tidak dapat diangkat seperti bekas gigitan, diambil dengan cara menyerapnya dengan kertas saring, kemudian diangin-anginkan hingga kering.

Pengambilan sampel ini memerlukan bahan pembanding berupa darah tersangka. Masing masing barang bukti dan bahan pembanding dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label; dan segera dikirim ke Labfor Polri. Apabila penyidik tidak

dapat mengambil barang bukti maka meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Tata cara pengambilan barang bukti saliva/air liur adalah sebagai berikut, jika barang bukti saliva/air liur dapat ditemukan pada puntung rokok atau benda-benda bekas gigitan. Pengambilan puntung rokok atau benda bekas gigitan yang dapat diangkat dengan menggunakan pinset, masukan ke dalam amplop, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label. Apabila terdapat beberapa puntung rokok atau benda bekas gigitan yang dapat diangkat, masing-masing dibungkus secara terpisah, Namun jika benda bekas gigitan tidak dapat diangkat, serap saliva/air liur dari benda tersebut dengan menggunakan kertas saring atau kain kasa/kain putih, angin-anginkan hingga kering, masukan ke dalam kantong plastik, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label.



Gambar 7. Sampel air liur dalam tabung yang diberi label

f. Tumbuhan

Pemeriksaan barang bukti tumbuh-tumbuhan memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, tumbuhan berupa rumput atau herbal dengan tinggi kurang lebih 30 (tiga puluh) cm, diambil seluruhnya dari akar hingga pucuknya, kemudian dibuat herbarium. Jika tumbuhan berupa pohon yang besar, diambil bagian tangkai, daun, bunga dan buahnya kemudian dibuat herbarium. Herbarium dibungkus dengan kertas dan diberi pelindung agar tidak rusak. Semua barang bukti dimasukkan ke dalam kotak karton, diikat, dilak, disegel, dan segera dikirim ke Labfor Polri.

Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti tumbuh-tumbuhan, maka dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP. Pembuatan herbarium dilakukan dengan cara sebagai berikut;

tumbuhan dipres dengan anyaman pada kedua sisinya; bagian atasnya ditutup dengan kertas; dijemur di bawah sinar matahari pada pagi hari; dan penjemuran dilakukan berulang-ulang sehingga tumbuhan menjadi kering.

Pemeriksaan barang bukti polen pada tumbuhan sebagai berikut, yaitu baju dan celana tersangka/korban yang diduga mengandung polen dimasukkan ke dalam kantong plastik dan tutup/diikat, bungkus yang rapi, diikat, dilak, disegel, dan diberi label, dan segera dikirim ke Labfor Polri; serta apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti polen, dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.



Gambar 8. Tanaman yang dikeringkan (Herbarium) sebagai bukti forensic

g. mikroorganisma

Pemeriksaan barang bukti sampel mikro organisme dalam tanah wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, mikro organisme yang terdapat pada tanah, diambil dengan tanahnya. Tanah diambil hanya pada permukaannya saja; pengambilan sampel tanah paling sedikit dari 3 tempat atau lokasi; sampel tanah yang dibutuhkan paling sedikit 25 (dua puluh lima) gram; sampel tanah dimasukkan ke dalam kantong plastik terpisah, masing-masing kantong diberi tanda atau kode tempat pengambilan sampel; tempatkan barang bukti tersebut pada kardus atau peti, diikat, dilak dan disegel, dan segera dikirim ke Labfor Polri; dan apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti tanah yang mengandung mikroorganisma dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Pemeriksaan barang bukti daging hewan wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut:

- a. barang bukti daging hewan dilakukan penyisihan sampel secara acak (*random*) sehingga dapat mewakili dari keseluruhan barang bukti, dengan ketentuan:
 1. barang bukti yang beratnya kurang dari 500 (lima ratus) gram dikirim semua;
 2. barang bukti yang beratnya 500 (lima ratus) gram sampai dengan 10.000 (sepuluh ribu) gram dikirim 500 (lima ratus) gram; dan
 3. barang bukti yang beratnya lebih dari 10.000 (sepuluh ribu) gram dikirim sesuai dengan rumus \sqrt{n} (n = jumlah barang bukti).
- b. barang bukti dibungkus dengan plastik bening dan tidak diawetkan dengan formalin;
- c. selama dalam pengiriman, barang bukti yang telah ditempatkan dalam wadah, wadahnya dimasukan kedalam *Ice Box* yang telah diisi es batu; dan
- d. apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti daging hewan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 75 huruf a dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.



Gambar 9. Pengambilab sampel tanah untuk uji forensic

. Agar barang bukti tidak mengalami perubahan atau terkontaminasi selama dalam penyimpanan/perjalanan ke laboratorium pemeriksa, lakukan pengawetan terhadap barang bukti tersebut, sesuai dengan jenis barang bukti dan tujuan pemeriksaan. pembungkusan, penyegelan, dan pelabelan barang bukti.

Pada label dicantumkan:

- a) jenis dan jumlah barang bukti;
- b) lokasi pengambilannya;
- c) tanggal/bulan/tahun pengambilan;
- d) jam pengambilan; dan
- e) nama dan tanda tangan petugas pengambil/penyita barang bukti



Gambar 10. Pencantuman label pada barang bukti

Barang bukti harus memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut:

- a. jumlah barang bukti:
 1. korban masih hidup (kasus keracunan):
 - a) sisa makanan minuman (bila ada);
 - b) muntahan (bila ada);
 - c) cairan tubuh korban seperti; urine (25 ml); darah (10 ml); dan cairan lambung.
 - d) sisa obat-obatan yang diberikan dokter beserta resepnya (bila korban sempat mendapat perawatan dokter).



Gambar 11. Koban hidup keracunan

2. korban mati/meninggal:

a) organ/jaringan tubuh:

- 1) lambung beserta isi (100 gr);
- 2) hati (100 gr);
- 3) ginjal (100 gr);
- 4) jantung (100 gr);
- 5) *tissue adipose* (jaringan lemak bawah perut) (100 gr); dan
- 6) otak (100 gr).

b) cairan tubuh:

- 1) urine (25 ml);
- 2) darah (10 ml); dan

c) sisa makanan, minuman, obat-obatan, alat/peralatan/wadah antara lain piring, gelas, sendok/garpu, alat suntik, dan barang-barang lain yang diduga ada kaitannya dengan kasus; dan

e) barang bukti pembanding bila diduga sebagai penyebab kematian korban.



Gambar 12. Korban meninggal

3. korban mati telah dikubur:
 - a) apabila mayat korban belum rusak, maka barang bukti yang diperlukan sama dengan barang bukti sebagaimana dimaksud pada angka 2;
 - b) apabila mayat korban sudah rusak/hancur maka barang bukti yang diperlukan adalah:
 - 1) tanah bagian bawah lambung/perut korban;
 - 2) tanah bagian bawah kepala korban;
 - 3) rambut korban; dan
 - 4) kuku jari tangan dan jari kaki korban.



Gambar 13. Korban meninggal dunia yang telah dikuburkan

- b. pengambilan barang bukti:
 1. pengambilan barang bukti organ tubuh/jaringan tubuh dan cairan tubuh untuk korban mati dilakukan oleh dokter pada saat otopsi;

2. pengambilan barang bukti darah dan cairan lambung untuk korban hidup dilakukan oleh dokter atau para medis; dan
 3. apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti di TKP segera menghubungi petugas Labfor untuk mengambil barang bukti.
- c. pengumpulan barang bukti:
1. tiap jenis barang bukti ditempatkan dalam wadah yang terpisah;
 2. khusus untuk organ tubuh, gunakan wadah berupa botol mulut lebar/toples yang terbuat dari gelas atau plastik yang masih bersih dan baru (hindari pemakaian botol/toples bekas);
 3. barang bukti tidak diawetkan dengan formalin, kecuali untuk pemeriksaan Pathologi Anatomi, menggunakan bahan pengawet formalin 10%;
 4. barang bukti yang mudah membusuk, organ tubuh, muntahan, dan sisa makanan diawetkan dengan menggunakan alkohol 96% hingga terendam;
 5. contoh alkohol yang digunakan sebagai bahan pengawet juga dikirimkan sebagai pembanding;
 6. untuk kasus dengan dugaan keracunan alkohol, barang bukti tidak diawetkan dengan Alkohol, tetapi barang bukti yang telah ditempatkan dalam wadah, wadahnya dimasukkan kedalam *Ice Box* yang telah diisi es batu;
 7. untuk kasus-kasus keracunan gas CO, alkohol dan obat-obatan, barang bukti darah diawetkan dengan antikoagulan heparin; dan
 8. setiap wadah barang bukti ditutup serapat mungkin, gunakan *cellotape* atau yang sejenis untuk menghindari kebocoran.
- d. pembungkusan dan penyegelan barang bukti:
1. tiap jenis barang bukti harus dibungkus terpisah, diikat, dilak, disegel dan diberi label;
 2. tempat barang bukti dalam tempat/peti yang cukup kuat dan tidak mudah rusak;
 3. memberikan sekat antara botol yang satu dengan botol yang lain agar tidak berbenturan dan pecah;
 4. menutup peti dengan rapat, diikat dengan tali dan disegel serta diberi label; dan
 5. menandai peti dengan tanda "*jangan dibalik dan jangan dibanting, awas pecah*".

C. Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing

D. BioTechniques 43:Sii-Sv



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 5

Topik :

Short Tandem Repeat : Teknik pengambilan dan penanganan material biologis

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Short Tandem Repeat : Teknik pengambilan dan penanganan material biologis

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan pengertian material biologis
2. Menganalisis berbagai teknik pengambilan dan penanganan material biologis

B. Uraian

1. Pendahuluan

Bidang forensik dikenal motto yang menyatakan tidak ada peristiwa kejahatan yang tidak meninggalkan jejak. Setiap tindak pidana pasti akan membawa atau meninggalkan sesuatu di TKP (Tempat Kejadian Perkara) sebagai jejak yang dijadikan barang bukti. Besi, kayu, kain (serat baju), rambut, air liur, darah, sperma, kulit, sidik jari merupakan saksi bisu yang harus ditemukan di TKP. Prinsip Locard menyatakan bahwa pertukaran materi terjadi akibat adanya kontak dari dua buah benda. Prinsip ini dikemukakan oleh Dr. Edmond Locard yang merupakan seorang pionir dalam ilmu forensik (Laupa, 2013). Dalam mendapatkan jejak yang dapat dijadikan barang bukti di TKP diperlukan usaha dan alat-alat khusus untuk menemukan bukti fisik yang tidak dapat disangkal. Bukti fisik tersebut akan mengungkapkan pelaku kejahatan sekaligus menjelaskan bagaimana dan kapan pelaku melakukan tindak pidana.



Gambar 1. Polisi forensik mengumpulkan barang bukti

2. Darah

Darah merupakan barang bukti biologis yang penting untuk analisa forensik. Melalui barang bukti darah dapat menelusuri jejak dan mengungkap kasus tindak pidana serta dapat mengungkap pelaku dan menghukumnya melalui proses peradilan. Barang bukti darah dapat memberikan informasi mengenai golongan darah dan profil DNA-nya. Sehingga dapat ditelusuri siapa pemilik darah tersebut. Namun darah akan mengalami degradasi karena lama simpan dan suhu. Barang bukti material Biologi dalam pemeriksaan forensik antara lain mencakup darah kering, darah segar, dan jaringan tubuh, rambut, air mani/sperma, saliva/air liur, tumbuh-tumbuhan, polen, mikro organisme dalam tanah, dan daging hewan. Kseluruhan sampel biologi memiliki prosedural eksaminasi sampel yang berbeda.



Gambar 2. Tim Forensik mengambil sampel darah dari korban kecelakaan

Pemeriksaan barang bukti material biologi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 64 Prosedur Pengambilan Sampel Kepolisian Republik Indonesia, wajib memenuhi persyaratan formal sebagai berikut:

- a. permintaan tertulis dari kepala kesatuan kewilayahan atau kepala/pimpinan instansi;
- b. laporan polisi;
- c. BAP saksi/tersangka atau laporan kemajuan;
- d. BA pengambilan, penyitaan, penyisihan, dan pembungkusan barang bukti; dan
- e. *Visum et Repertum* atau surat pengantar dokter forensik bila korban meninggal atau riwayat kesehatan (*medical record*) bila korban masih hidup.

Pada pemeriksaan barang bukti darah dan jaringan tubuh sebagaimana dimaksud dalam Pasal 64 ayat (2) huruf a wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, yaitu darah dan jaringan tubuh diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti darah dan jaringan tubuh; darah dan jaringan tubuh pada serpihan kecil, dikirim dalam keadaan kering; Jaringan tubuh yang terdapat pada gigi dan tulang dari kerangka manusia, dikirim beserta gigi dan tulangnya dalam keadaan kering; Jaringan tubuh yang terdapat pada gigi dan tulang dari mayat, setelah telah ditempatkan dalam wadah, wadahnya dimasukkan kedalam *Ice Box* yang telah diisi es batu; dan sampel darah tidak boleh terkontaminasi atau terkena sinar matahari.

Untuk mengetahui adanya darah korban dan tersangka pada pakaian korban, maka pakaian korban harus dikirim, dan tersangka yang terluka diperiksa golongan darahnya di laboratorium atau klinik rumah sakit/pusat kesehatan masyarakat (Puskesmas). Pada setiap barang bukti dimasukkan ke dalam wadah secara terpisah, dibungkus, diikat, dilak, disegel dan dilabel untuk segera dikirim ke Labfor Polri. Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti darah dan jaringan tubuh maka dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP (Tempat Kejadian Perkara).

Tata cara pengambilan barang bukti darah dan jaringan tubuh sebagaimana dimaksud dalam Pasal 64 ayat (2) huruf a, adalah sebagai berikut:

Proses pengambilan sampel darah harus menggunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi. Agar sampel terambil optimal maka tekan permukaan darah dengan sepotong kertas saring atau kain kasa/kain putih yang bersih, sehingga darah terserap, jika sampel darah ditemukan di beberapa lokasi, maka pada setiap lokasi digunakan kertas saring atau kain kasa/kain putih tersendiri. Darah yang telah diserap dikeringkan di ruang terbuka dengan di angin-anginkan tanpa menggunakan alat pengering dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari, untuk selanjutnya serapan darah yang diambil dari masing-masing lokasi dimasukkan secara terpisah ke dalam amplop/sampul atau wadah/kantong plastik, kemudian dibungkus dan masing-masing diikat dilak, disegel, dan diberi label.

Jika yang diambil adalah sampel darah kering, maka tetap gunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi, pengambilan dilakukan dengan mengerik darah kering dengan menggunakan alat kerik yang tajam dan bersih. Selanjutnya kerikan darah ditampung pada sehelai kertas putih bersih kemudian dilipat dan dimasukkan ke dalam amplop yang diberi label. Jika sampel darah kering ditemukan lebih dari satu lokasi darah kering, setiap lokasi menggunakan alat kerik yang berbeda, tidak menggunakan yang bekas. Hasil kerikan dari setiap lokasi yang berbeda ditampung secara terpisah.

Jika bercak darah kering yang ditemukan laisannya telah menjadi tipis dan sulit untuk dikerik, maka langkah yang dilakukan adalah dengan mengambil sepotong kain katun putih dan membasahi kain tersebut dengan air suling/*aquadest* sampai lembab dan kain basah tersebut disapukan pada permukaan bercak darah, sehingga bercak darah terserap. Serapan darah dikeringkan di ruang terbuka dengan di angin-anginkan tanpa menggunakan alat pengering dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari, kemudian serapan dimasukkan dalam amplop/sampul kemudian diikat dilak, disegel, dan diberi label.



Gambar 3. Pengambilan darah sampel

b. Jaringan tubuh

Jika sampel Biologi berupa jaringan tubuh (pada kulit, gigi, tulang, dan sebagainya), maka tetap gunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi, jaringan tubuh yang berasal dari mayat, diambil oleh dokter forensik, pilih jaringan tubuh yang belum mengalami pembusukan lanjut. Apabila mayat telah mengalami pembusukan lanjut, ambil gigi berakar tiga (geraham) dan tulang. Sampel tulang dan gigi dari TKP kebakaran atau ledakan, ambil serpihan-serpihan jaringan yang ditemukan di TKP; dan masing-masing jaringan tubuh dimasukkan kedalam kantong plastik yang berbeda, diikat dilak, disegel, dan diberi label.

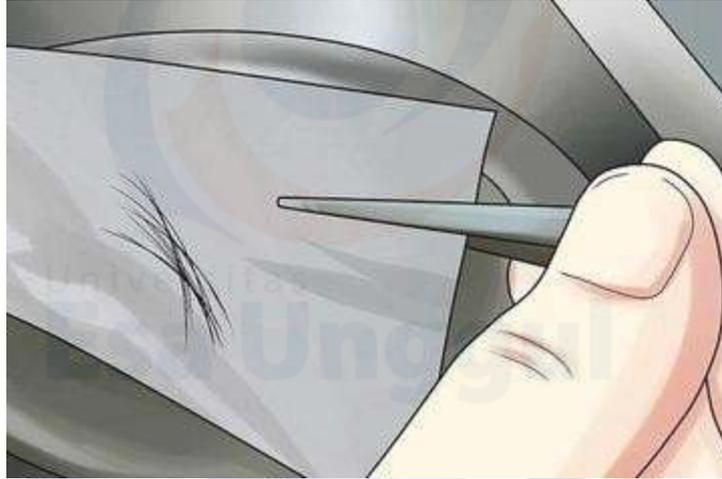


Gambar 4. Pengambilan sampel dari bagian tubuh korban

c. Sampel Rambut

Pemeriksaan barang bukti rambut wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut: rambut diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti rambut sebagaimana dimaksud dalam pasal 69 peraturan ini; rambut dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan kedalam amplop dan diberi label; apabila terdapat beberapa rambut, gunakan lipatan kertas putih yang berbeda; diperlukan bahan pembanding rambut tersangka/korban, dengan jumlah paling sedikit 3 helai rambut berikut akarnya; rambut pembanding dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label, dan segera dikirim ke Labfor Polri. Jika penyidik tidak dapat mengambil barang bukti rambut sebagaimana dimaksud dalam huruf a, dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Sedangkan tata cara pengambilan barang bukti rambut sebagaimana dimaksud apabila ditemukan rambut di TKP atau tempat lain yang terkait dengan kejadian perkara, dilakukan langkah-langkah sebagai berikut, maka angkat rambut dengan hati-hati dari permukaan objek dengan menggunakan pinset; rambut dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan kedalam amplop dan diberi label. Apabila terdapat beberapa rambut, gunakan lipatan kertas putih yang berbeda; kertas lipatan tersebut masukkan ke dalam amplop/sampul lalu diberi label. Apabila rambut diduga terdapat pada kemaluan korban (dalam kasus perkosaan, dan pembunuhan dengan pemerkosaan), dilakukan langkah-langkah sebagai berikut, sisir rambut kemaluan korban (minta bantuan suster petugas wanita atau korban sendiri) secara hati-hati dengan sisir yang bersih; dan rambut yang terkumpul dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan kedalam amplop kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label.



Gambar 5. Cara pengambilan sampel Rambut dari korban

d. Air mani/sperma

Pemeriksaan barang bukti air mani/sperma wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut yaitu air mani/sperma diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti air mani/sperma. Jika air mani/sperma dalam keadaan kering, maka air mani/sperma yang menempel pada barang yang mudah diangkat (antara lain baju, sprei, sarung bantal, dan handuk), dikirimkan beserta barangnya. Sedangkan air mani/sperma yang menempel pada barang yang sulit diangkat (antara lain kasur dan karpet), maka dikirimkan bagian yang ada air mani/spermanya.

Jika air mani/sperma yang terdapat pada lantai, dikeringkan dan dikerik dengan alat yang tajam yang bersih, dimasukkan ke dalam lipatan kertas putih, lipatan kertas putih dimasukkan ke dalam amplop/sampul serta diberi label; setiap barang bukti dijaga agar tidak terkontaminasi, dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label. Apabila ditemukan air mani/sperma pada bagian tubuh korban hidup (paha dan vagina) agar meminta bantuan suster/dokter bidan Puskesmas setempat guna mengambil/mengumpulkan barang bukti air mani/sperma tersebut.

Pada pengambilan sampel ini juga diperlukan bahan pembanding air mani/sperma tersangka dan air mani/sperma pembanding dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label dan segera dikirim ke Labfor Polri. Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti air mani/sperma maka dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Tata cara pengambilan barang bukti air mani/sperma adalah sebagai berikut. Jika ditemukan pada benda yang mudah diangkat seperti pada pakaian dalam dan luar, sprei, sarung bantal, dan handuk maka seluruh barang dikumpulkan dan dipisahkan masing-masing benda tersebut. Apabila benda-benda tersebut basah atau lembab keringkan dahulu dengan cara mengangin-anginkan sebelum dibungkus. Jika ditemukan pada benda yang sulit

diangkat seperti kasur atau karpet, maka gunting bagian kasur atau karpet yang mengandung air mani dengan hati-hati.

Hasil guntingan kasur atau karpet yang mengandung air mani tersebut dimasukkan ke dalam sampul. Sedangkan air mani yang ditemukan pada benda yang sulit diangkat seperti lantai, maka gunakan sarung tangan untuk menghindari kontaminasi dan kerik air mani/sperma dengan menggunakan alat yang tajam dan bersih. Hasil kerikan air mani/sperma ditampung pada sehelai kertas putih bersih kemudian dilipat dan dimasukkan ke dalam amplop, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label. Jika ditemukan lebih dari satu lokasi air mani/sperma, setiap lokasi menggunakan alat tajam yang berbeda, tidak menggunakan yang bekas. Hasil kerikan dari setiap lokasi yang berbeda ditampung secara terpisah.



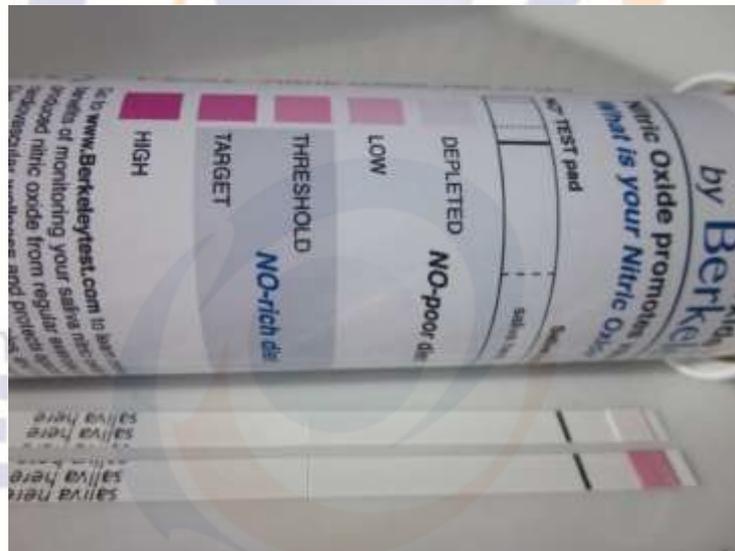
Gambar 6. Pengambilan sampel sperma korban

e. Sampel saliva/air liur

Pemeriksaan barang bukti saliva/air liur wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, saliva/air liur diambil sesuai dengan tata cara pengambilan barang bukti Saliva/air liur. Saliva/air yang terdapat pada barang yang dapat diangkat seperti puntung rokok, diangkat seluruh barangnya, Jika saliva/air yang terdapat pada barang yang tidak dapat diangkat seperti bekas gigitan, diambil dengan cara menyerapnya dengan kertas saring, kemudian di angin-anginkan hingga kering.

Pengambilan sampel ini memerlukan bahan pembanding berupa darah tersangka. Masing masing barang bukti dan bahan pembanding dibungkus secara terpisah, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label; dan segera dikirim ke Labfor Polri. Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti maka meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Tata cara pengambilan barang bukti saliva/air liur adalah sebagai berikut, jika barang bukti saliva/air liur dapat ditemukan pada puntung rokok atau benda-benda bekas gigitan. Pengambilan puntung rokok atau benda bekas gigitan yang dapat diangkat dengan menggunakan pinset, masukan ke dalam amplop, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label. Apabila terdapat beberapa puntung rokok atau benda bekas gigitan yang dapat diangkat, masing-masing dibungkus secara terpisah, Namun jika benda bekas gigitan tidak dapat diangkat, serap saliva/air liur dari benda tersebut dengan menggunakan kertas saring atau kain kasa/kain putih, angin-anginkan hingga kering, masukan ke dalam kantong plastik, kemudian diikat, dilak, disegel, dan diberi label.



Gambar 7. Sampel air liur dalam tabung yang diberi label

f. Tumbuhan

Pemeriksaan barang bukti tumbuh-tumbuhan memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, tumbuhan berupa rumput atau herbal dengan tinggi kurang lebih 30 (tiga puluh) cm, diambil seluruhnya dari akar hingga pucuknya, kemudian dibuat herbarium. Jika tumbuhan berupa pohon yang besar, diambil bagian tangkai, daun, bunga dan buahnya kemudian dibuat herbarium. Herbarium dibungkus dengan kertas dan diberi pelindung agar tidak rusak. Semua barang bukti dimasukkan ke dalam kotak karton, diikat, dilak, disegel, dan segera dikirim ke Labfor Polri.

Apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti tumbuh-tumbuhan, maka dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP. Pembuatan herbarium dilakukan dengan cara sebagai berikut; tumbuhan dipres dengan anyaman pada kedua sisinya; bagian atasnya ditutup dengan

kertas; dijemur di bawah sinar matahari pada pagi hari; dan penjemuran dilakukan berulang-ulang sehingga tumbuhan menjadi kering.

Pemeriksaan barang bukti polen pada tumbuhan sebagai berikut, yaitu baju dan celana tersangka/korban yang diduga mengandung polen dimasukkan ke dalam kantong plastik dan tutup/diikat, bungkus yang rapi, diikat, dilak, disegel, dan diberi label, dan segera dikirim ke Labfor Polri; serta apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti polen, dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.



Gambar 8. Tanaman yang dikeringkan (Herbarium) sebagai bukti forensic

g. mikroorganisma

Pemeriksaan barang bukti sampel mikro organisme dalam tanah wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut, mikro organisme yang terdapat pada tanah, diambil dengan tanahnya. Tanah diambil hanya pada permukaannya saja; pengambilan sampel tanah paling sedikit dari 3 tempat atau lokasi; sampel tanah yang dibutuhkan paling sedikit 25 (dua puluh lima) gram; sampel tanah dimasukkan ke dalam kantong plastik terpisah, masing-masing kantong diberi tanda atau kode tempat pengambilan sampel; tempatkan barang bukti tersebut pada kardus atau peti, diikat, dilak dan disegel, dan segera dikirim ke Labfor Polri; dan apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti tanah yang mengandung mikroorganisma dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.

Pemeriksaan barang bukti daging hewan wajib memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut:

- a. barang bukti daging hewan dilakukan penyisihan sampel secara acak (*random*) sehingga dapat mewakili dari keseluruhan barang bukti, dengan ketentuan:
 1. barang bukti yang beratnya kurang dari 500 (lima ratus) gram dikirim semua;
 2. barang bukti yang beratnya 500 (lima ratus) gram sampai dengan 10.000 (sepuluh ribu) gram dikirim 500 (lima ratus) gram; dan
 3. barang bukti yang beratnya lebih dari 10.000 (sepuluh ribu) gram dikirim sesuai dengan rumus \sqrt{n} (n = jumlah barang bukti).
- b. barang bukti dibungkus dengan plastik bening dan tidak diawetkan dengan formalin;
- c. selama dalam pengiriman, barang bukti yang telah ditempatkan dalam wadah, wadahnya dimasukkan kedalam *Ice Box* yang telah diisi es batu; dan
- d. apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti daging hewan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 75 huruf a dapat meminta bantuan petugas Labfor Polri untuk pengambilan barang bukti atau pemeriksaan barang bukti langsung di TKP.



Gambar 9. Pengambilan sampel tanah untuk uji forensic

Agar barang bukti tidak mengalami perubahan atau terkontaminasi selama dalam penyimpanan/perjalanan ke laboratorium pemeriksa, lakukan pengawetan terhadap barang bukti tersebut, sesuai dengan jenis barang bukti dan tujuan pemeriksaan. pembungkusan, penyegelan, dan pelabelan barang bukti.

Pada label dicantumkan:

- a) jenis dan jumlah barang bukti;
- b) lokasi pengambilannya;
- c) tanggal/bulan/tahun pengambilan;
- d) jam pengambilan; dan
- e) nama dan tanda tangan petugas pengambil/penyita barang bukti



Gambar 10. Pencantuman label pada barang bukti

Barang bukti harus memenuhi persyaratan teknis sebagai berikut:

- a. jumlah barang bukti:
 1. korban masih hidup (kasus keracunan):
 - a) sisa makanan minuman (bila ada);
 - b) muntahan (bila ada);
 - c) cairan tubuh korban seperti; urine (25 ml); darah (10 ml); dan cairan lambung.
 - d) sisa obat-obatan yang diberikan dokter beserta resepnya (bila korban sempat mendapat perawatan dokter).



Gambar 11. Korban hidup keracunan

2. korban mati/meninggal:

a) organ/jaringan tubuh:

- 1) lambung beserta isi (100 gr);
- 2) hati (100 gr);
- 3) ginjal (100 gr);
- 4) jantung (100 gr);
- 5) *tissue adipose* (jaringan lemak bawah perut) (100 gr); dan
- 6) otak (100 gr).

b) cairan tubuh:

- 1) urine (25 ml);
- 2) darah (10 ml); dan

c) sisa makanan, minuman, obat-obatan, alat/peralatan/wadah antara lain piring, gelas, sendok/garpu, alat suntik, dan barang-barang lain yang diduga ada kaitannya dengan kasus; dan

e) barang bukti pembanding bila diduga sebagai penyebab kematian korban.



Gambar 12. Korban meninggal

3. korban mati telah dikubur:
 - a) apabila mayat korban belum rusak, maka barang bukti yang diperlukan sama dengan barang bukti sebagaimana dimaksud pada angka 2;
 - b) apabila mayat korban sudah rusak/hancur maka barang bukti yang diperlukan adalah:
 - 1) tanah bagian bawah lambung/perut korban;
 - 2) tanah bagian bawah kepala korban;
 - 3) rambut korban; dan
 - 4) kuku jari tangan dan jari kaki korban.



Gambar 13. Korban meninggal dunia yang telah dikuburkan

- b. pengambilan barang bukti:
 1. pengambilan barang bukti organ tubuh/jaringan tubuh dan cairan tubuh untuk korban mati dilakukan oleh dokter pada saat otopsi;

2. pengambilan barang bukti darah dan cairan lambung untuk korban hidup dilakukan oleh dokter atau para medis; dan
 3. apabila penyidik tidak dapat mengambil barang bukti di TKP segera menghubungi petugas Labfor untuk mengambil barang bukti.
- c. pengumpulan barang bukti:
1. tiap jenis barang bukti ditempatkan dalam wadah yang terpisah;
 2. khusus untuk organ tubuh, gunakan wadah berupa botol mulut lebar/toples yang terbuat dari gelas atau plastik yang masih bersih dan baru (hindari pemakaian botol/toples bekas);
 3. barang bukti tidak diawetkan dengan formalin, kecuali untuk pemeriksaan Pathologi Anatomi, menggunakan bahan pengawet formalin 10%;
 4. barang bukti yang mudah membusuk, organ tubuh, muntahan, dan sisa makanan diawetkan dengan menggunakan alkohol 96% hingga terendam;
 5. contoh alkohol yang digunakan sebagai bahan pengawet juga dikirimkan sebagai pembanding;
 6. untuk kasus dengan dugaan keracunan alkohol, barang bukti tidak diawetkan dengan Alkohol, tetapi barang bukti yang telah ditempatkan dalam wadah, wadahnya dimasukkan kedalam *Ice Box* yang telah diisi es batu;
 7. untuk kasus-kasus keracunan gas CO, alkohol dan obat-obatan, barang bukti darah diawetkan dengan antikoagulan heparin; dan
 8. setiap wadah barang bukti ditutup serapat mungkin, gunakan *cellotape* atau yang sejenis untuk menghindari kebocoran.
- d. pembungkusan dan penyegelan barang bukti:
1. tiap jenis barang bukti harus dibungkus terpisah, diikat, dilak, disegel dan diberi label;
 2. tempat barang bukti dalam tempat/peti yang cukup kuat dan tidak mudah rusak;
 3. memberikan sekat antara botol yang satu dengan botol yang lain agar tidak berbenturan dan pecah;
 4. menutup peti dengan rapat, diikat dengan tali dan disegel serta diberi label; dan
 5. menandai peti dengan tanda "*jangan dibalik dan jangan dibanting, awas pecah*".

C. Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing

D. BioTechniques 43:Sii-Sv



**MODUL MATAKULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 6

Topik :

Short Tandem Repeat : Ekstraksi DNA

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Short Tandem Repeat : Ekstraksi DNA

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan pengertian Ekstraksi DNA
2. Menganalisis berbagai berbagai Teknik ekstraksi DNA dari berbagai sampel jenis sampel dengan berbagai kondisi

B. Uraian

1. Pendahuluan

Ilmu forensik mengenal menyatakan bahwa tidak ada peristiwa kejahatan yang tidak meninggalkan jejak. Setiap tindak pidana pasti akan membawa dan meninggalkan sesuatu jejak di TKP (Tempat Kejadian Perkara) sebagai barang bukti yang dapat mengungkapkan peristiwa yang terjadi. Semua benda yang ditemukan, besi, kayu, kain (serat baju), rambut, air liur, darah, sperma, kulit, sidik jari merupakan saksi bisu yang dapat dijadikan bukti kejadian yang sesungguhnya yang harus ditemukan di TKP.



Gambar 1. Tempat Kejadian Perkara (TKP) yang dipasang line police (garis polisi) untuk memudahkan pengambilan barang bukti

Ahli Forensik Edmond Locard menyatakan bahwa akan terjadi pertukaran materi akibat adanya kontak dari dua buah benda, sehingga akan menimbulkan jejak. Oleh karena semua benda yang di lokasi TKP sangat berharga dan penting untuk menjadi saksi bisu.

Dalam mendapatkan jejak yang dapat dijadikan barang bukti di TKP diperlukan usaha dan alat-alat khusus untuk menemukan bukti fisik yang tidak dapat disangkal. Bukti fisik tersebut akan mengungkapkan pelaku kejahatan sekaligus menjelaskan bagaimana dan kapan pelaku melakukan tindak pidana.

Salah satu Teknik untuk mengungkapkan identitas seseorang pada barang bukti yang ditemukan di TKP adalah uji DNA pada jejak yang ditinggalkan. Misal jika terjadi kebakaran, maka untuk mengungkap korban kebakaran karena korban tidak lagi dikenal adalah dengan teknologi DNA. Atau jika ada perilaku kejahatan untuk mengungkap pelaku dapat dilakukan pengambilan sampel yang ditinggalkan pelaku, misal air liur pada puntung rokok, air liur pada gelas, atau air mani jika terjadi kejadian perkosaan. Ekstraksi atau isolasi DNA adalah salah satu teknik dasar yang harus dikuasai dalam mempelajari teknik biologi molekuler. Tujuan dari ekstraksi atau isolasi DNA adalah memisahkan DNA (asam nukleat) dan membuangnya dari komponen sel lainnya seperti protein, karbohidrat dan lemak sehingga DNA yang diperoleh dapat dianalisis dan dimodifikasi lebih lanjut dengan teknik biologi molekuler

Tiap jaringan mempunyai kandungan DNA yang berbeda-beda tergantung struktur serta komposisi selnya. Jaringan dengan banyak sel berinti dan sedikit jaringan ikat umumnya mempunyai kadar DNA tinggi. Pemilihan organ yang akan diisolasi DNA guna analisis kasus forensik sangatlah penting. Setiap bagian tubuh manusia dapat diambil sebagai spesimen karena setiap sel yang berinti dalam tubuh seseorang memiliki rangkaian DNA identik, dimana seorang anak pada dasarnya menerima jumlah material genetika yang sama dari ibu dan ayah kandungnya (hukum pewarisan sifat dari Mendel). Selama ini spesimen (sampel) yang banyak dipakai dalam pemeriksaan DNA untuk mengidentifikasi adalah bercak darah/darah, bercak sperma, vaginal swab, buccal swab, dan tulang.

Dalam kedokteran forensik, salah satu pemeriksaan yang sangat membantu penyidikan adalah pemeriksaan barang bukti yang ada di tubuh korban, pelaku kejahatan dan tempat kejadian perkara (TKP). Pelaku tindak kejahatan sering menghilangkan atau mengaburkan barang bukti pelaku atau korban, misalnya dengan pencucian. Pada pencucian biasanya pelaku terfokus pada bercak darah sehingga hanya bercak darah saja yang dicuci, dipotong atau dibakar. Namun demikian pada pakaian selain terdapat bercak darah juga masih ada bercak keringat yang melekat terutama pada daerah tertentu misal di kerah leher pakaian, lengan ataupun bagian ketiak pakaian. Pada kasus jerat atau gantung diri, pada umumnya didapatkan adanya kencing atau cairan mani yang keluar dari alat kelamin serta kotoran dari anus yang merupakan akibat proses mati lemas (asfiksia).

Urine yang menempel pada celana atau kain sekitarnya atau dengan kata lain bercak urine tersebut.



Gambar 2. Pencarian barang bukti di TKP kasus Pembunuhan ibu dan anak

2. Ekstraksi DNA inti dari sampel darah

DNA (Deoxyribonucleic acid) merupakan asam nukleat pembawa genetika dalam kehidupan. Informasi genetik terletak di dalam inti sel dan tersusun rapi membentuk kromosom. DNA penyusun kromosom inilah yang menentukan karakteristik sifat/jenis rambut, warna kulit dan sifat-sifat khusus yang berbeda antara satu individu dengan lainnya. Perbedaan DNA yang dimiliki oleh seseorang inilah yang menjadi alasan metode sidik DNA menjadi salah satu alat pembuktian yang cukup akurat saat ini.

Molekul DNA dalam suatu sel dapat diekstraksi atau diisolasi untuk berbagai macam keperluan seperti amplifikasi dan analisis DNA melalui elektroforesis. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA.

Terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam proses isolasi DNA antara lain harus menghasilkan DNA tanpa adanya kontaminan seperti protein dan RNA; metodenya harus efektif dan bisa dilakukan untuk semua spesies metode yang dilakukan tidak boleh mengubah struktur dan fungsi molekul DNA; dan metodenya harus sederhana dan cepat.

Tahap pertama dalam isolasi DNA adalah proses perusakan atau penghancuran membran dan dinding sel. Pemecahan sel (lisis) merupakan tahapan dari awal isolasi DNA yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel. Tahap penghancuran sel atau jaringan memiliki beberapa cara yakni dengan cara fisik seperti menggerus sampel dengan menggunakan mortar dan pestle dalam nitrogen cair atau dengan menggunakan metode freezing-thawing dan iradiasi. Cara lain yakni dengan menggunakan kimiawi maupun enzimatik. Penghancuran dengan menggunakan kimiawi seperti penggunaan detergen yang dapat melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destabilisasi membran sel.

Sementara cara enzimatik seperti menggunakan proteinase K seperti untuk melisiskan membran pada sel darah serta mendegradasi protein globular maupun rantai polipeptida dalam komponen sel. Faktor lingkungan seperti halnya kelembaban serta temperatur lingkungan sangatlah berpengaruh terhadap kondisi DNA yang digunakan sebagai bahan identifikasi DNA di bidang forensik, sebagaimana pada pemeriksaan DNA dibidang lainnya. DNA dari darah kering dan segar dilakukan dengan menggunakan metode fenol kloroform.



Gambar 3. Sampel darah kering pada kain yang dapat diidentifikasi DNANYa

Darah merupakan salah satu sumber DNA yang sering digunakan sebagai barang bukti dalam bidang forensik. Kondisi darah sebagai barang bukti di lapangan (TKP) dapat ditemukan di berbagai macam media diantaranya pada besi, kayu, kain, tembok, lantai, kertas dan gunting yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi dan analisis DNA. Dalam ilmu forensik, hasil analisis DNA merupakan alat bukti yang sangat menentukan dalam menyelesaikan beberapa kasus criminal.

Darah segar mempunyai nilai yang lebih penting daripada darah kering, karena dari hasil uji kualitas darah segar dapat diperoleh hasil yang lebih baik. Dalam hubungannya

dengan forensik maka kecepatan penanganan dari sebuah kasus yang melibatkan darah sebagai barang buktinya menjadi sangat penting. Seorang polisi yang bertindak sebagai penyidik memiliki kemampuan dalam pengenalan dan pengumpulan barang bukti secara tepat dalam menangani kasus tindak pidana. Mereka bertanggung jawab terhadap pengujian (analisis) dari berbagai jenis barang bukti yang diperoleh di TKP, melakukan identifikasi, kuantifikasi serta dokumentasi barang bukti. Dari hasil analisis tersebut kemudian dievaluasi, diinterpretasi dan dibuatkan laporan berdasarkan keterangan ahli untuk kepentingan hukum atau peradilan.

Darah akan mengering setelah kontak dengan udara luar dalam waktu 3-5 menit. Begitu darah mengering maka darah akan berubah warna dari merah menjadi coklat kehitaman. Darah pada sebuah kasus kriminal dapat berbentuk genangan darah, tetesan, usapan atau bentuk kerak. Dari genangan darah akan diperoleh hasil DNA yang lebih baik karena itu merupakan darah segar.

Sampel darah kering pada kayu diambil dengan cotton buds steril yang telah dibasahi aquades steril dan darah kering pada besi dikerok dengan skalpel steril, sedangkan untuk darah segar langsung diteteskan pada tabung eppendorf sebanyak tiga tetes. Usapan atau kerokan darah kering baik pada besi dan kayu dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL yang telah diisi dengan 300 μ L buffer lisis. Ekstraksi DNA menggunakan metode fenol kloroform yang dimodifikasi.



Gambar 4. Langkah-langkah ekstraksi DNA dari darah

3. Ekstraksi DNA inti dari urine

Urine mengandung DNA inti dan DNA mitokondria. Komposisi urine mengandung sedikit sel epitel yang merupakan hasil pelepasan regular dari kandung kemih dan uretra eksternal. Berkenaan dengan komposisi tersebut, maka bercak urine pada pakaian mengandung sel somatik yang berinti sehingga dapat dilakukan ekstraksi DNANYA. Sampai

saat ini di Indonesia identifikasi personal melalui bercak urine dengan metode analisis DNA (DNA profiling) .

Kain yang mengandung bercak urine dipotong dan dimasukkan ke dalam tabung conical dan dicampur dengan DNA free water, selanjutnya dilakukan sonikasi selama 2-3 jam. Potongan kain lalu dikeluarkan dan cairan yang masih berada di tabung dan disentrifus. Pellet diambil kemudian dicampur dengan 1 ml DNAzol. Keduanya dicampur dengan cara vortexing lalu diinkubasi. Metoda isolasi dilanjutkan dengan metoda yang sama umumnya dengan metoda isolasi DNA lainnya. Hasil ekstraksi DNA di amplifikasi dengan PCR dan dianalisis dengan elektroforesis.



Gambar 5. Bercak urine dan darah pelaku serta korban pada kain di TKP

Pada pemeriksaan DNA forensik yang berbasis Restriction Fragment Length Polymorphism (RLFP) misalnya, kadar DNA yang dibutuhkan relatif besar yakni sekitar 100 ng, masih 'segar' dengan maksud untuk meningkatkan kemungkinan keberhasilan dalam penatalaksanaan. Kadar DNA minimal yang dibutuhkan pada pemeriksaan DNA forensik masing-masing sebesar 50 ng dan 20 ng, sedangkan kadar DNA dalam pemeriksaan STR minimal 0,5-2,5 ng. Kadar DNA yang didapat dari sampel bercak urine antara rentang 35-15 µg/ ml, sehingga masih mencukupi untuk pemeriksaan forensik.

Pada umumnya sampel-sampel forensik yang dilakukan pemeriksaan DNA, 40% sudah mengalami degradasi atau kontaminasi, sehingga dengan analisis Short Tandem Repeat (STR) yang mempunyai core sequences kurang 1 kb (kilobase) sangat efektif dan nilai keberhasilannya cukup tinggi, terutama pada DNA yang mengalami degradasi akan terfragmented (terpotong-potong) dengan menghasilkan fragmen yang pendek-pendek. Federal Bureau of Investigation (FBI) bersinergis dengan Combined DNA Index System (CODIS) telah mendesain 16 lokus STR untuk sebagai rekomendasi dalam pemeriksaan identifikasi forensik atau paternitas.

Mengenai syarat minimal jumlah lokus STR yang digunakan untuk pemeriksaan sampai saat ini belum ada kesepakatan. Ada beberapa laboratorium mensyaratkan minimal 3 lokus untuk pemeriksaan paternitas atau identifikasi DNA, di TDC Universitas Airlangga dilakukan 7-8 lokus, sedang di Jakarta dilakukan 9 lokus ditambah lokus Amelogenin dalam paternity test, 5 sampai 6 lokus STR memiliki nilai perbandingan 1:100 milyar, sehingga pada prinsipnya mengenai jumlah lokus yang diperiksa adalah semakin banyak lokus yang digunakan pemeriksaan semakin baik nilai akurasi.

Tabel 1. Beberapa lokus STR untuk uji Forensik

Lokus STR	Lokasi	Repeat Motif	Ukuran PCR Produk (bp)
CSF1P0	5q33.1	AGAT	321 – 357
FGA	4q31.3	CTTT/TTCC	322 – 444
TH01	11p15.5	TCAT	156 – 195
TPOX	22p25.3	AATG	262 – 290
vWA	12p13.31	TCTA / TCTG	123 – 171
D3S1358	3p21.31	TCTA / TCTG	115 – 147
D5S818	5q23.2	AGAT	119 – 155
D7S820	7q21.11	GATA	215 – 247
D8S1179	8q24.13	TCTA / TCTG	203 – 247
D13S317	13q31.1	TATC	169 – 201
D16S539	16q24.1	GATA	264 – 304
D18S51	18q21.33	AGAA	290 – 366
D21S11	21q21.1	TCTA / TCTG	203 – 259

Penentuan jenis kelamin secara biologi molekuler dilakukan dengan lokus amelogenin. Amelogenin adalah sebuah gen yang mengkodekan protein yang terdapat pada kromosom seks (X dan Y). Pada gen amelogenin terdapat delesi 6 bp di dalam intron 1 pada homolog X, sehingga bila amplifikasi PCR dari area ini dengan primer, menghasilkan amplicon 106 bp dan 112 bp dari kromosom X dan Y. Diperlukan pengamatan khusus pada hasil elektroforesis untuk membedakan letak band X dan Y yang hanya 6 bp, sehingga hanya nampak band-nya tebal (XY/pria) dan tipis (XX/wanita). Karena adanya delesi 6 bp pada kromosom X, sehingga produk kromosom X itu sendiri memainkan peran sebagai kontrol positif. Sementara itu penggunaan kromosom Y untuk tujuan forensik dibatasi oleh kurangnya penanda-penanda polymorphic. Karena kromosom Y diwariskan dari ayah kepada anak laki-laki tanpa rekombinan, kromosom Y bukanlah variabel diantara individu-individu dan hasil-hasil dari penanda-penanda individual tidak dapat dikombinasikan dengan menggunakan kaidah produk.

Urine terdiri dari air dengan bahan terlarut berupa sisa metabolisme seperti urea, garam pelarut dan materi organik. Pada analisis dipstick urine untuk mengetahui adanya

protein darah dan nitrit dalam urine serta untuk mengetahui pH. Analisis urine mikroskopik adalah studi urine dengan mikroskop untuk mendeteksi adanya bakteri, sel darah merah, sel darah putih dan sel epitel. Sel epitel tersebut merupakan sel yang menyusun permukaan dinding bagian dalam ginjal dan saluran kencing (terdapat 3 jenis sel epitel: skuamosa, transisi, dan sel tubulus ginjal), sehingga normal bila sel-sel tersebut terdeteksi dalam urine. Sel-sel epitel hampir selalu ada dalam urine, apalagi yang berasal dari kandung kemih (vesica urinary), urethra dan vagina.



Gambar 6. Sel epitel urine



Gambar 7. Sel epitel air liur

Pada bercak urine, cairan urine akan hilang akibat evaporasi sedangkan sel-sel tersebut akan menempel pada serat-serat benang kain. Bercak urine diletakkan pada suhu kamar selama maksimal 20 hari (sesuai KUHAP, lama masa penahanan dalam proses penyidikan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lingkungan berpengaruh terhadap kadar

DNA. Seperti diketahui faktor lingkungan seperti halnya kelembaban serta temperatur lingkungan sangatlah berpengaruh terhadap kondisi DNA yang digunakan sebagai bahan identifikasi DNA di bidang forensik, sebagaimana pada pemeriksaan DNA lainnya.

4. Ekstraksi DNA inti dari sperma

Metode ekstraksi DNA dikembangkan untuk dapat memisahkan protein dan materi-materi sel lain dari molekul DNA. Salah satu metode yang digunakan saat ini untuk ekstraksi DNA pada laboratorium forensik DNA adalah ekstraksi organik (phenol-cloroform), sedangkan untuk analisis hasil ekstraksi ada beberapa metode seperti elektroforesis dengan gel agarosa atau menggunakan teknik PCR (Polymerase Chain Reaction). Semua sel maupun jaringan makhluk hidup termasuk spermatozoa yang terdapat pada sperma mengandung DNA. Sperma sering digunakan sebagai bukti untuk menyelesaikan kasus pemerkosaan, terutama dalam identifikasi pelaku.

Sisa sperma pada kondom dapat dijadikan bukti yang paling bermanfaat dari kasus yang terkait dengan kejahatan seksual. Karena pada saat ini banyak penyakit seksual yang berpotensi fatal bagi manusia sehingga para pelaku kejahatan seksual pun sudah mulai menggunakan kondom untuk melakukan tindak kejahatan. Pada kasus pemerkosaan, korban sering tidak langsung melaporkan ke pihak berwajib sehingga sulit untuk mendapatkan bukti sisa sperma pada vagina korban. Dengan keterlambatan laporan, bukti hanya bisa didapat dari benda-benda yang ada di TKP seperti kondom yang berisi sisa sperma. Berdasarkan penelitian, DNA masih dapat diekstraksi dan diamplifikasi dari sisa sperma dalam kondom dengan rentang waktu hingga 12 hari. Berdasarkan latar belakang di atas rentang waktu penyimpanan perlu diperpanjang untuk mengetahui sampai berapa lama DNA masih dapat diekstraksi dari sisa sperma dalam kondom.

Berdasarkan hasil visualisasi, semua sampel DNA dapat diekstraksi dan diamplifikasi hingga penyimpanan hari ke-35. Keberhasilan ekstraksi DNA sperma dari kondom yang telah disimpan hingga 35 hari menunjukkan bahwa DNA tetap dapat diperoleh dari sel spermatozoa yang sudah mati. Spermatozoa dalam kondom tanpa spemisida hanya bertahan hidup sekitar 15% dari total sperma hingga 3 hari sedangkan spermatozoa dalam kondom yang mengandung spemisida hanya bertahan sekitar 6%. Kemungkinan hingga hari ke-35 sel spermatozoa sudah mati tetapi belum terjadi kerusakan pada sel spermatozoa. DNA masih bisa didapat dari sel walaupun sel tersebut sudah mengalami kematian. Selain itu kemungkinan di dalam kondom terdapat pengawet yang menyebabkan sperma sulit mengalami kerusakan. Tidak terjadinya kerusakan pada sel spermatozoa kemungkinan dikarenakan kondom yang digunakan dalam penelitian ini diikat pada bagian

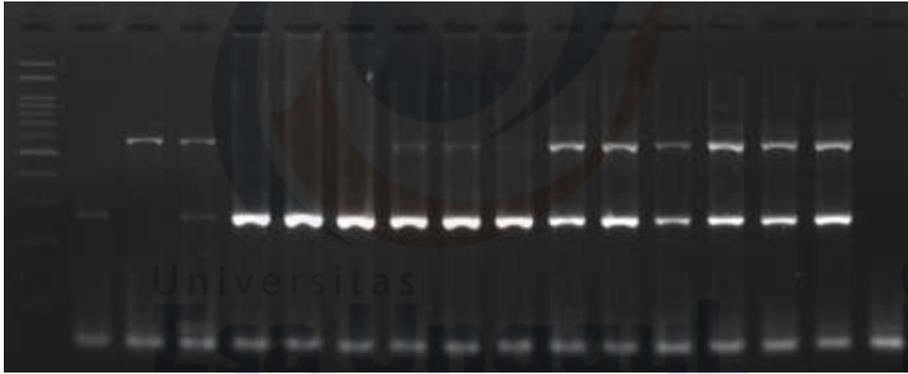
ujung, sehingga bakteri yang membutuhkan oksigen untuk hidup tidak dapat berkembang dengan baik dan tidak mampu mengkontaminasi sel spermatozoa.



Gambar 8. Spermatozoa

Selain bakteri, sel sperma juga dapat didegradasi oleh paparan sinar matahari dan deterjen. Karena penyimpanan kondom pada penelitian ini didalam ruangan sehingga tidak terpapar matahari secara langsung. Kualitas hasil ekstraksi DNA sperma baik di dalam kondom maupun pada kain berbeda-beda. Dilihat pada gambar 1 pada sumuran no. 6 dan 7 dengan sampel sperma hasil ekstraksi DNA hari ke 15 dan 20 terlihat gambaran smear dibandingkan dengan sampel pada sumuran lainnya yang terlihat lebih bersih. Hasil yang tidak begitu baik ini dapat terjadi karena adanya kontaminasi protein maupun RNA atau zat lainnya sehingga hasil terlihat tebal dan smear (kotor). Demikian juga karena proses ekstraksi DNA yang kurang sempurna.

Hasil ekstraksi DNA yang baik adalah tebal dan tidak smear karena mengindikasikan DNA yang didapat utuh. Hal ini menjadi penting karena pada proses PCR, DNA yang masih utuh akan lebih memberikan hasil yang relatif lebih akurat. Selain kualitas, kuantitas hasil ekstraksi juga berbeda.



Gambar 9. Hasil proses elektroforesis, pita yang terang menunjukkan hasil amplifikasi DNA yang sangat baik

Faktor lain yang mungkin menyebabkan tidak munculnya pita DNA pada proses elektroforesis adalah penambahan TE buffer pada proses ekstraksi. TE buffer mengandung EDTA, yang dapat membentuk senyawaan kompleks dengan ion logam seperti Mg^{2+} . Dalam hal ini EDTA merupakan chelating agent. Mg^{2+} adalah prekursor untuk enzim Taq DNA polymerase yang digunakan pada reaksi PCR, jika jumlah EDTA pada larutan DNA cukup banyak, bisa menyebabkan reaksi PCR menjadi terhambat karena enzim DNA polymerase-nya tidak dapat bekerja secara sempurna.

5. Teknik Ekstraksi DNA

Proses ekstraksi DNA menggunakan prosedur ekstraksi DNA whole blood sesuai protocol Kit Promega dengan memodifikasi sebagai berikut: Sampel darah yang diambil masing-masing sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung falcon dan disimpan dalam lemari pendingin. Proses ekstraksi DNA menggunakan prosedur ekstraksi DNA whole blood sesuai protokol Kit ekstra DNA yang dimodifikasi.

Darah sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung falcon yang baru, kemudian tambahkan larutan PBS (Phosfat Buffer Saline) ke dalam tabung falcon sebanyak 3 ml (3000 μ L) lalu dikocok dan di inkubasi selama 7 menit lalu disentrifuse selama 7 menit kemudian perlakuan ini diulangi sebanyak 3 kali. Setelah itu supernatant dibuang dan apabila pada larutan masih terdapat darah maka masukkan Cell Lysis Solution (CLS) untuk melisis sel darah tersebut. Larutan yang telah berisi CLS disentrifuse selama 30 detik pada suhu kamar yaitu 27oC dengan kecepatan 13000 – 16000 rpm sampai sel darah putih tersuspensi.

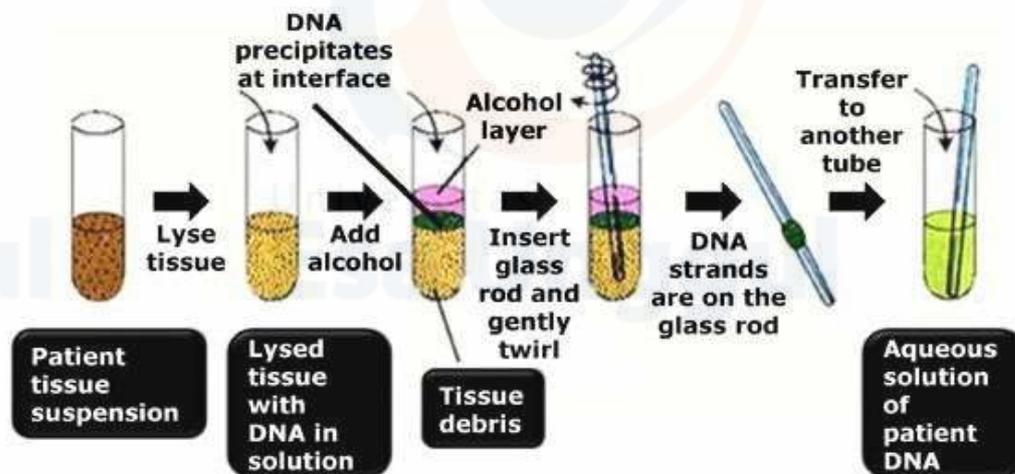
Setelah itu, tambahkan larutan Nuclei Lysis Solution pada larutan sebanyak 300 μ L untuk melisis sel darah putih sampai terlihat sangat kental. Kemudian RNase Solution sebanyak 1,5 μ L ditambahkan ke larutan dan dibolak-balik sebanyak 2-5 kali, larutan

diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit sampai muncul endapan dan dinginkan pada suhu ruang. Protein Precipitation Solution ditambahkan pada larutan sebanyak 100 µL dan vortek selama 20 detik maka akan muncul gumpalan kecil protein setelah divortex. Larutan akan disentrifuse lagi pada kecepatan 13000 – 16000 rpm selama 3 menit pada suhu ruang dan akan terlihat protein pellet yang berwarna cokelat gelap. Kemudian supernatan akan dipindahkan ke tabung mikro yang baru sebanyak 200 µL dan isopropanol dimasukkan sebanyak 300 µL. Larutan digoyang-goyang sampai masa benang putih yang merupakan strand DNA terlihat dan larutan disentrifuse selama 2 menit pada kecepatan 13000 – 16000 rpm.

Supernatan dibuang dan menambahkan etanol 70% sebanyak 600 µL dan disentrifuse selama 2 menit. Supernatan dibuang dengan sangat hati-hati dan sisa etanol dikeringkan. Setelah kering, DNA rehydration Solution atau TE ditambahkan sebanyak 100 µL pada tabung kering yang berisi DNA lalu disentil-sentil secukupnya supaya keadaan DNA lebih stabil. Agar DNA tidak rusak sebelum dilakukan PCR maka akan disimpan pada suhu 2-8oC.

Sel darah yang memiliki inti hanyalah sel darah putih, jadi untuk pengisolasian genom berfokus pada sel darah putih. Proses isolasi genom ini menggunakan PBS sebagai pencuci, sehingga endapan sel darah akan didapatkan. Setelah melalui pencucian 3 kali, supernatant dibuang dan tersisa hanya sel darah. Kedalam tabung ditambahkan Cell Lysis Solution (CLS) untuk menghancurkan sel darah. Setelah itu dimasukkan Nuclei Lysis Solution (NLS) untuk memecahkan inti sel darah putih sehingga genomakan terlepas keluar. Untuk menghancurkan atau mendegradasi protein di dalam darah digunakan larutan protein precipitation solution sampai terlihat protein pellet yang berwarna cokelat. Selain itu bahan lain yang digunakan untuk isolasi DNA darah yaitu isopropanol yang berfungsi untuk melepas DNA dari supernatant. Dan untuk mendapat kan hasil isolasi DNA darah yang murni maka ditambahkan larutan DNA Dehydration Solution yang berfungsi untuk memperjelas atau mengikat DNA serta membuat DNA dalam keadaan stabil.

Setelah selesai melalui proses seperti langkah kerja diatas, sampel DNA yang sudah diperoleh akan di elektroforesis dan PCR. Akan tetapi karena tidak langsung dilakukan elektroforesis disimpan di lemari pendingin dengan suhu yang sesuai.



Gambar 10. Proses isolasi DNA

C. Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Locus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing *BioTechniques* 43:Sii-Sv

Yudianto, A. & Sispitasi YE. 2016. Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal. Media Pharmaceutica Indonesiana, Vol. 1 (1).

Lanang GD, Junita K, Suaskara IBM. 2015. Ekstraksi DNA Sperma Pada Kondom Yang Dalam Rentang Waktu Berbeda Disimpan DNA Extraction Of Sperm In Condom Stored In Different Time Scales A.A. Jurnal Biologi XVII (2) : 47 - 50

Universitas
Esa Unggul



**MODUL MATAKULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 7

Topik :

Short Tandem Repeat : Uji Kuantifikasi DNA

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Short Tandem Repeat : Uji Kuantifikasi DNA

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian kuantifikasi DNA
2. Menganalisis berbagai berbagai Teknik uji kuantifikasi DNA hasil isolasi DNA

B. Uraian

1. Pendahuluan

Analisis kuantitatif merupakan salah satu teknik analisis yang bertujuan untuk menentukan jumlah atau seberapa banyak suatu zat atau komponen zat. Aplikasi yang dapat dimanfaatkan dari teknik analisis kuantitatif adalah menghitung jumlah DNA atau RNA dalam suatu larutan.

Kuantifikasi DNA merupakan suatu proses untuk memastikan bahwa DNA yang didapatkan dari ekstraksi adalah benar berasal dari manusia dan memastikan bahwa DNA tidak terkontaminasi, sehingga perlu dilakukan uji kemurnian. Setelah diyakini bahwa DNA yang diperoleh memiliki kemurnian untuk larutan DNA, maka dapat dilakukan uji kuantitatif dan kualitatif. Uji ini sangat penting untuk memastkan kuantitatif DNA yang akan dianalisis pada uji forensic, sehingga data yang diperoleh mewakili data DNA yang diharapkan, Sampel DNA korban biasanya sangat sedikit dan telah tercemari atau rusak oleh factor lingkungan. Maka sangat penting untuk dilakukan uji kemurnian, uji kualitatif dan kuantitatif DNA yang diperoleh dari sampel.

Kadar DNA merupakan faktor penting dalam pemeriksaan DNA forensic yakni berpengaruh terhadap keberhasilan STR-PCR pada sampel DNA yang diperoleh. Penurunan kadar DNA hingga 1 ng berpotensi terhadap penurunan kemampuan deteksi STR hingga 95%. Jumlah kadar DNA yang dibutuhkan dalam analisis DNA forensic berbeda-beda tergantung dari kebutuhan dan jenis pemeriksaan.

Pada pemeriksaan Short Tandem Repeat (STR) hanya membutuhkan konsentrasi DNA minimal antara 1-25 ng. Selain tergantung dari kadar DNA, pada pemeriksaan forensic juga membutuhkan kualitas DNA yang mencukupi yaitu DNA dalam kondisi terdegradasi seminimal mungkin. Apabila DNA dalam kondisi terdegradasi parah, maka dapat mengakibatkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan. Degradasi DNA pada jenazah dapat disebabkan oleh 2 faktor, yaitu

endogenous dan exogenous. Faktor endogenous berasal pada sel sendiri (kerusakan spontan), faktor exogenous berasal dari lingkungan.

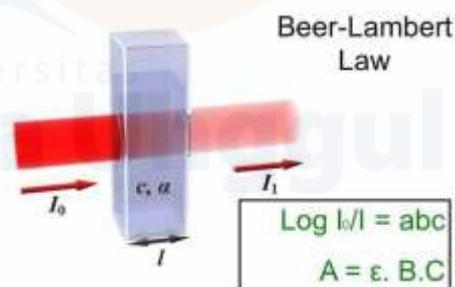
Kemurnian DNA diperoleh dari perbandingan absorbansi A_{260}/A_{280} pada sampel DNA. Nilai 260 nm merupakan nilai maksimal DNA dapat menyerap cahaya, nilai tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan konsentrasi DNA, sedangkan nilai 280 merupakan nilai maksimal residu protein dapat menyerap cahaya.

Sementara nilai kemurnian DNA berkisar antara 1.8-2.0. Nilai kemurnian DNA yang tinggi diduga karena adanya sisa-sisa etanol pada saat pengeringan yang tidak sempurna dan adanya sisa kandungan metabolit sekunder pada organ tanaman yang diekstrak. Meskipun nilai kemurnian DNA diatas 2,0, PCR tetap dilanjutkan selama memiliki kurva kemurnian yang baik.

2. Teknologi uji kuantifikasi DNA

a. Uji kuantifikasi dengan spektrofotometer

Analisis kuantifikasi DNA dapat dilakukan dengan bantuan alat, yaitu spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat yang dilengkapi dengan sumber cahaya (gelombang elektromagnetik), baik cahaya UV (*ultra-violet*) atau pun cahaya nampak (*visible*). Komponen utama dari alat ini adalah sumber cahaya, pengatur intensitas, monokromator, kuvet, detektor, penguat arus dan indikator atau layar.



Gambar 1. Absorbansi pada kuvet yang berisi cairan DNA

Metode yang digunakan untuk kuantifikasi DNA biasanya berupa absorbansi pada panjang gelombang 260 nm atau menggunakan fluorescence setelah pewarnaan menggunakan ethidium bromide. Namun, kekurangan dan metode ini adalah tidak begitu sensitif dan pengukuran absorbansi tidak spesifik untuk DNA sehingga protein kontaminan atau fenol sisa ekstraksi dapat memberi perhitungan yang salah.

Sinar UV digunakan untuk mengukur bahan larutan yang terbaca dengan panjang gelombang di bawah 400 nm. Sinar *visible light* bisa digunakan untuk mengukur bahan dengan panjang gelombang 400-700 nm. Sumber cahaya dari alat tersebut memancarkan seberkas cahaya melalui dua buah lensa dan celah masuk ke suatu sisi difraksi yang akan menyebarkan cahaya menjadi berkas horizontal dengan semua warna spektrum. Cahaya yang mengenai suatu benda dalam larutan contoh akan dihamburkan, sedangkan cahaya yang lolos atau diteruskan akan melewati sampel akan mengaktifasi fototabung dan akan menampilkan persen trasmitan. Biasanya Absorban merupakan daya cahaya masuk dan daya cahaya yang diteruskan melewati larutan.

Absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi, artinya konsentrasi semakin tinggi maka absorbansi yang dihasilkan makin tinggi, begitupun sebaliknya konsentrasi makin rendah absorbansi yang dihasilkan semakin rendah. Semakin banyak jumlah DNA yang terkandung dalam larutan, maka semakin kecil cahaya yang dapat diloloskan.

Spektrofotometri sinar UV digunakan untuk mengukur tingkat kemurnian DNA hasil isolasi. Blanko atau larutan contoh dimanfaatkan untuk menstabilkan absorbansi akibat perubahan voltase atau intensitas cahaya dari sumber. Larutan blanko yang di gunakan pada praktikum ini adalah ddH₂O. DNA memiliki nilai tingkat kemurnian yang tinggi jika nilai absorbannya antara 1.8 sampai 2.0, jika melebihi nilai 2.0 maka larutan yang diuji masih mengandung kontaminan dari protein membran atau senyawa lainnya sehingga kadar DNA plasmid yang didapat belum murni. Jika kurang dari 1.8 maka ddH₂O yang diambil terlalu banyak sedangkan DNA yang diambil terlalu sedikit.

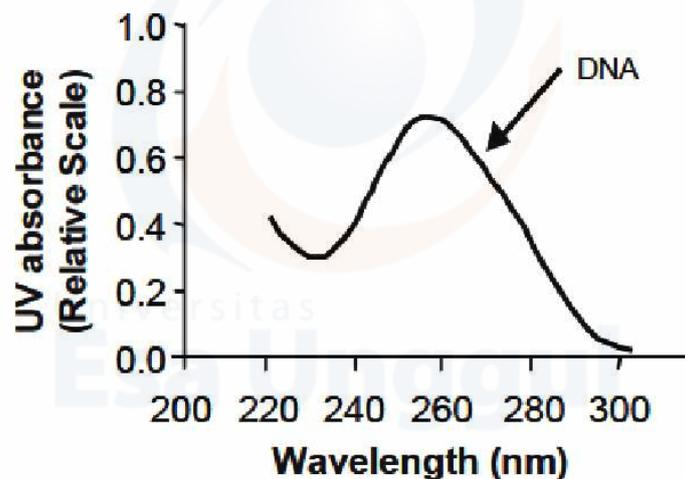


Gambar 2. Spektrofotometri sinar UV

Penentuan panjang gelombang maksimum perlu dilakukan untuk mengetahui dimana terjadi absorpsi maksimum dan untuk meningkatkan proses absorpsi larutan

terhadap sinar. Panjang gelombang yang digunakan untuk mengetahui kandungan DNA/RNA menggunakan spektrofotometri UV adalah 260 nm, sedangkan untuk mengetahui kandungan protein menggunakan spektrofotometri UV dengan panjang gelombang 280 nm.

Nilai kemurnian suatu bahan ditentukan dengan nisbah rasio λ 260/280 yang menyatakan kualitas DNA tersebut. Nilai nisbah rasio pada praktikum kurang dari 1.8, ini berlaku untuk semua kelompok. Artinya DNA plasmid yang diisolasi belum sempurna murni, masih terdapat zat yang tidak diinginkan, misalnya protein. Nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi, artinya konsentrasi semakin tinggi maka absorbansi yang dihasilkan semakin tinggi. Nilai konsentrasi sebanding dengan nilai absorbansi panjang gelombang 260, menandakan jumlah DNA yang terkandung dan konsentrasinya. Jika nilai konsentrasinya tinggi maka nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 juga tinggi misalnya pada kelompok 4 yang plasmidnya memiliki nilai absorbansi 0.134 dan konsentrasinya adalah 1173 ng/ μ l.



Gambar 3. Absorbansi Panjang gelombang DNA

Panjang gelombang yang digunakan untuk mengetahui kandungan DNA/RNA menggunakan spektrofotometri UV adalah 260 nm, sedangkan untuk mengetahui kandungan protein menggunakan spektrofotometri UV dengan panjang gelombang 280 nm. Nilai nisbah rasio λ 260/280 pada praktikum ini kurang dari 1.8. Artinya DNA yang diisolasi belum sempurna murni, masih terdapat zat yang tidak diinginkan, misalnya protein. Absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi, artinya konsentrasi semakin tinggi maka absorbansi yang dihasilkan semakin tinggi, begitu pula sebaliknya.

Tabel 1. Perbandingan Panjang gelombang dan konsentrasi

Sampel	Panjang Gelombang (nm)		Konsentrasi ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	Rasio Absorbansi (A260/280)
	A260	A280		
1	0,057	0,034	0,143	1,676
2	0,042	0,027	0,105	1,556
3	0,076	0,048	0,190	1,583
4	0,069	0,045	0,173	1,533

b. Uji kualitas DNA dengan elektroforesis

Uji kualitas DNA dilakukan dengan elektroforesis pada gel agarosa 1,2%. Sampel sebanyak 5 μL dicampur dengan 1 μL loading dye di atas kertas parafilm, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel. Selanjutnya proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Uji kuantitas dilakukan dengan membandingkan pendaran DNA hasil ekstraksi terhadap marker DNA yang konsentrasinya telah diketahui. DNA hasil elektroforesis yang diperoleh terdapat smear. Smear pita DNA tersebut diduga disebabkan oleh pemipetan DNA berulang-ulang sehingga DNA akan terpotong. Hal ini mengakibatkan terjadinya smear pada pita-pita yang diuji.



Gambar 5. Pita DNA hasil elektroforesis

DNA dari sampel darah segar maupun darah kering biasanya akan memberikan gambaran pita DNA yang bersih. Hal ini menunjukkan hasil ekstraksi DNA tersebut relatif baik (murni/ tanpa adanya kontaminan RNA maupun protein). Hasil ekstraksi DNA yang masih mengandung protein atau RNA memberikan gambaran smear pada elektrogramnya.

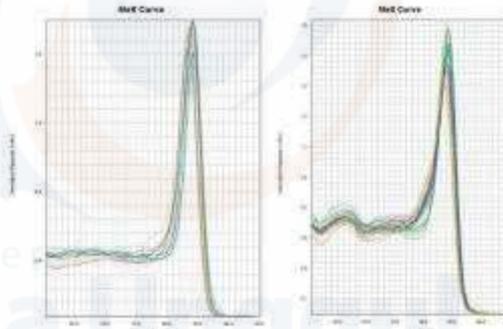
Pita DNA yang smear dapat disebabkan oleh terdegradasinya sampel DNA. Konsentrasi DNA yang rendah akan menyebabkan terbentuknya pita DNA yang tipis untuk dapat dideteksi pada gel agarosa. Tingkat kuantitas hasil ekstraksi DNA ditunjukkan oleh tebal tipisnya DNA yang berpendar dibandingkan dengan pendaran pengenceran Lambda DNA, sedangkan kualitas ekstraksi DNA dilihat dari ketajaman dan kebersihan pita yang berpendar.

Indikasi terdapatnya DNA dari hasil ekstraksi dapat terlihat dari pita DNA yang membentuk smear. Perkiraan ukuran pita DNA dapat diketahui dari perbandingan marker. Marker yang digunakan memiliki ukuran total 1500 pb (pasang basa). Munculnya pita pada gel menandakan terdapatnya DNA dari hasil ekstraksi terlepas dari ada tidaknya materi ikutan selama proses isolasi. Uji eksistensi DNA seperti ini mudah dan sederhana, namun tidak dapat mengkuantifikasi secara detail konsentrasi DNA yang sebenarnya dari tiap sampel.

c. Hasil Visualisasi dengan PCR

Selain itu, kuantifikasi DNA dalam sampel juga penting dalam pemeriksaan PCR. Dalam pemeriksaan DNA tidak diharapkan jumlah DNA yang terlalu kecil atau jumlah DNA yang terlalu banyak. DNA yang terlalu banyak dapat menyebabkan kesulitan saat interpretasi dan memakan waktu yang lebih lama, sedangkan DNA yang terlalu sedikit dapat mengakibatkan hilangnya alel-alel yang diperlukan karena reaksi PCR gagal untuk mengamplifikasi DNA dengan baik. Jumlah DNA yang dikehendaki untuk pemeriksaan DNA adalah antara 0.5 ng – 2.0 ng.

Hasil visualisasi DNA dianalisis secara deskriptif, yakni dengan melihat ada tidaknya gambaran pita atau band sesuai dengan ukuran produk PCR (base pair) masing-masing lokus dan setingkat dengan kontrol positif. Hasil visualisasi DNA jaringan lunak manusia yang terpapar formalin interval 1 bulan selama 6 bulan pada lokus D13S317 ini dapat terdeteksi. Hal ini membuktikan bahwa lokus D13S317 merupakan lokus yang potensial untuk identifikasi forensik. Penurunan kadar DNA pada jaringan lunak manusia yang terpapar formalin tersebut tidak menimbulkan efek yang berarti, yang menyebabkan DNA jumlahnya sedikit. Sekarang, telah dikembangkan beberapa metode baru seperti prosedur slot blot dan microtiter plate assay berbasis fluoresensi yang dapat disebut "real-time atau kuantitatif PCR



Gambar 6. Grafik melting curve pada RT PCR yang dapat diukur secara kuantifikasi jumlah DNA yang diperoleh berdasarkan nilai CT

Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah templat DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates); buffer PCR; magnesium klorida (MgCl₂) dan enzim polimerase DNA.

Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA.

PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda DNA templat (unamplified DNA) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suatu suhu tertentu untuk memberi waktu pada primer menempel (anneal primers) pada daerah tertentu dari target DNA. Polimerase DNA digunakan untuk memperpanjang primer (extend primers) dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP dan dTTP) dan buffer yang sesuai. Umumnya keadaan ini dilakukan antara 20 – 40 siklus. Target DNA yang diinginkan (short "target" product) akan meningkat secara eksponensial setelah siklus keempat dan DNA non-target (long product) akan meningkat secara linier seperti tampak pada bagan di atas (Newton and Graham, 1994).

Jumlah kopi fragmen DNA target (amplicon) yang dihasilkan pada akhir siklus PCR dapat dihitung secara teoritis menurut rumus:

$$Y = (2^n - 2^n)X$$

Y : jumlah amplicon

n : jumlah siklus

X : jumlah molekul DNA templat semula

Jika $X = 1$ dan jumlah siklus yang digunakan adalah 30, maka jumlah amplicon yang diperoleh pada akhir proses PCR adalah 1.074×10^9 . Dari fenomena ini dapat terlihat bahwa dengan menggunakan teknik PCR dimungkinkan untuk mendapatkan fragmen DNA yang diinginkan (amplicon) secara eksponensial dalam waktu relatif singkat.

Umumnya jumlah siklus yang digunakan pada proses PCR adalah 30 siklus. Penggunaan jumlah siklus lebih dari 30 siklus tidak akan meningkatkan jumlah amplicon secara bermakna dan memungkinkan peningkatan jumlah produk yang non-target.

Perlu diingat bahwa di dalam proses PCR efisiensi amplifikasi tidak terjadi 100 %, hal ini disebabkan oleh target templat terlampaui banyak, jumlah polimerase DNA terbatas dan kemungkinan terjadinya reannealing untai target.

Untuk melakukan proses PCR diperlukan komponen-komponen seperti yang telah disebutkan di atas. Pada bagian ini akan dijelaskan secara rinci kegunaan dari masing-masing komponen tersebut.

1. Templat DNA

Fungsi DNA templat di dalam proses PCR adalah sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. Templat DNA ini dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid ataupun fragmen DNA apapun asal di dalam DNA templat tersebut mengandung fragmen DNA target yang dituju.

Penyiapan DNA templat untuk proses PCR dapat dilakukan dengan menggunakan metode lisis sel ataupun dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid dengan menggunakan metode standar yang ada. Pemilihan metode yang digunakan di dalam penyiapan DNA templat tergantung dari tujuan eksperimen.

Pembuatan DNA templat dengan menggunakan metode lisis dapat digunakan secara umum, dan metode ini merupakan cara yang cepat dan sederhana untuk pendedahan DNA kromosom ataupun DNA plasmid. Prinsip metode lisis adalah merusak dinding sel tanpa harus merusak DNA yang diinginkan. Oleh karena itu kerusakan dinding sel umumnya dilakukan dengan cara memecahkan dinding sel menggunakan buffer lisis. Komposisi buffer lisis yang digunakan tergantung dari jenis sampel. Beberapa contoh buffer lisis yang biasa digunakan mempunyai komposisi sebagai berikut: 5 mM Tris-Cl pH 8,5; 0,1 mM EDTA pH 8,5; 0,5 % Tween-20 dan 100 ug/mL Proteinase-K (ditambahkan dalam keadaan segar). Buffer lisis ini umumnya digunakan untuk jenis sampel yang berasal dari biakan, sel-sel epitel dan sel akar rambut.

Selain dengan cara lisis, penyiapan DNA templat dapat dilakukan dengan cara mengisolasi DNA kromosom ataupun DNA plasmid menurut metode standar yang

tergantung dari jenis sampel asal DNA tersebut diisolasi. Metode isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid memerlukan tahapan yang lebih kompleks dibandingkan dengan penyiapan DNA dengan menggunakan metode lisis. Prinsip isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid adalah pemecahan dinding sel, yang diikuti dengan pemisahan DNA kromosom / DNA plasmid dari komponen-komponen lain. Dengan demikian akan diperoleh kualitas DNA yang lebih baik dan murni.

2. Primer

Keberhasilan suatu proses PCR sangat tergantung dari primer yang digunakan. Di dalam proses PCR, primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi dan sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses eksistensi DNA.

Perancangan primer dapat dilakukan berdasarkan urutan DNA yang telah diketahui ataupun dari urutan protein yang dituju. Data urutan DNA atau protein bisa didapatkan dari database GenBank. Apabila urutan DNA maupun urutan protein yang dituju belum diketahui maka perancangan primer dapat didasarkan pada hasil analisis homologi dari urutan DNA atau protein yang telah diketahui mempunyai hubungan kekerabatan yang terdekat.

Dalam melakukan perancangan primer harus dipenuhi kriteria-kriteria sebagai berikut:

a. Panjang primer

Di dalam merancang primer perlu diperhatikan panjang primer yang akan dipilih. Umumnya panjang primer berkisar antara 18 – 30 basa. Primer dengan panjang kurang dari 18 basa akan menjadikan spesifisitas primer rendah. Untuk ukuran primer yang pendek kemungkinan terjadinya mispriming (penempelan primer di tempat lain yang tidak diinginkan) tinggi, ini akan menyebabkan berkurangnya spesifisitas dari primer tersebut yang nantinya akan berpengaruh pada efektifitas dan efisiensi proses PCR. Sedangkan untuk panjang primer lebih dari 30 basa tidak akan meningkatkan spesifisitas primer secara bermakna dan ini akan menyebabkan lebih mahal.

b. Komposisi primer.

Dalam merancang suatu primer perlu diperhatikan komposisinya. Rentetan nukleotida yang sama perlu dihindari, hal ini dapat menurunkan spesifisitas primer yang dapat memungkinkan terjadinya mispriming di tempat lain. Kandungan (G+C) (% jumlah G dan C) sebaiknya sama atau lebih besar dari kandungan (G+C) DNA target. Sebab primer dengan % (G+C) rendah diperkirakan tidak akan mampu berkompetisi untuk menempel secara efektif pada tempat yang dituju dengan demikian akan menurunkan

efisiensi proses PCR. Selain itu, urutan nukleotida pada ujung 3' sebaiknya G atau C. Nukleotida A atau T lebih toleran terhadap mismatch dari pada G atau C, dengan demikian akan dapat menurunkan spesifisitas primer.

c. Melting temperature (T_m)

Melting temperatur (T_m) adalah temperatur di mana 50 % untai ganda DNA terpisah. Pemilihan T_m suatu primer sangat penting karena T_m primer akan berpengaruh sekali di dalam pemilihan suhu annealing proses PCR. T_m berkaitan dengan komposisi primer dan panjang primer. Secara teoritis T_m primer dapat dihitung dengan menggunakan rumus $[2(A+T) + 4(C+G)]$. Sebaiknya T_m primer berkisar antara 50 – 65 oC.

d. Interaksi primer-primer

Interaksi primer-primer seperti self-homology dan cross-homology harus dihindari. Demikian juga dengan terjadinya mispriming pada daerah lain yang tidak dikehendaki, ini semua dapat menyebabkan spesifisitas primer menjadi rendah dan di samping itu konsentrasi primer yang digunakan menjadi berkurang selama proses karena terjadinya mispriming. Keadaan ini akan berpengaruh pada efisiensi proses PCR.

3. dNTPs (deoxynucleotide triphosphates)

dNTPs merupakan suatu campuran yang terdiri atas dATP (deoksiadenosin trifosfat), dTTP (deoksitimidin trifosfat), dCTP (deoksisitidin trifosfat) dan dGTP (deoksiguanosin trifosfat). Dalam proses PCR dNTPs bertindak sebagai building block DNA yang diperlukan dalam proses ekstensi DNA. dNTP akan menempel pada gugus –OH pada ujung 3' dari primer membentuk untai baru yang komplementer dengan untai DNA templat. Konsentrasi optimal dNTPs untuk proses PCR harus ditentukan.

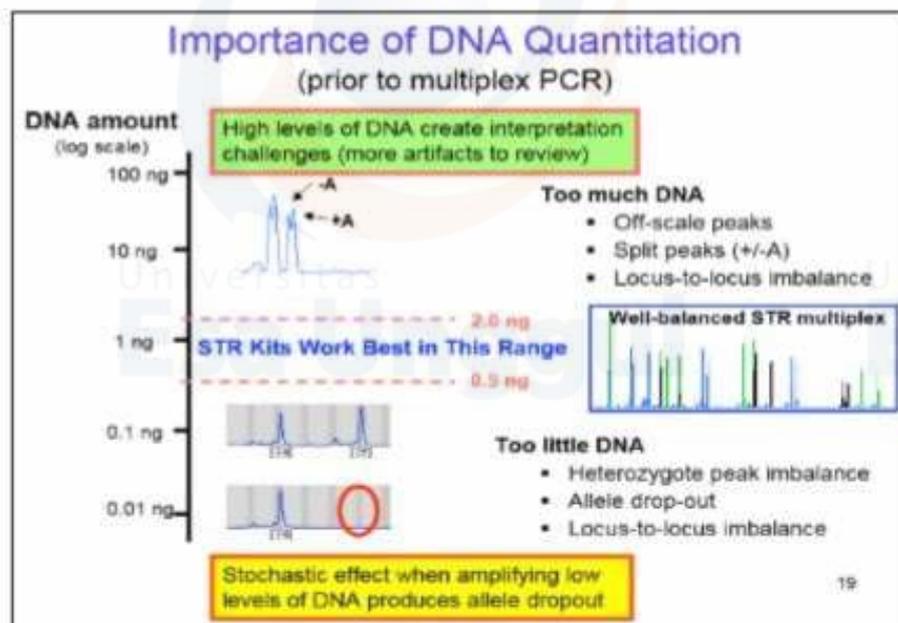
4. Buffer PCR dan $MgCl_2$

Reaksi PCR hanya akan berlangsung pada kondisi pH tertentu. Oleh karena itu untuk melakukan proses PCR diperlukan buffer PCR. Fungsi buffer di sini adalah untuk menjamin pH medium. Selain buffer PCR diperlukan juga adanya ion Mg^{2+} , ion tersebut berasal dari $MgCl_2$. $MgCl_2$ bertindak sebagai kofaktor yang berfungsi menstimulasi aktivitas DNA polimerase. Dengan adanya $MgCl_2$ ini akan meningkatkan interaksi primer dengan templat yang membentuk kompleks larut dengan dNTP (senyawa antara). Dalam proses PCR konsentrasi $MgCl_2$ berpengaruh pada spesifisitas dan perolehan proses. Umumnya buffer PCR sudah mengandung senyawa $MgCl_2$ yang diperlukan. Tetapi disarankan sebaiknya antara $MgCl_2$ dan buffer PCR dipisahkan supaya dapat dengan mudah dilakukan variasi konsentrasi $MgCl_2$ sesuai yang diperlukan.

5. Enzim Polimerase DNA

Enzim polimerase DNA berfungsi sebagai katalisis untuk reaksi polimerisasi DNA. Pada proses PCR enzim ini diperlukan untuk tahap ekstensi DNA. Enzim polimerase DNA yang digunakan untuk proses PCR diisolasi dari bakteri termofilik atau hipertermofilik oleh karena itu enzim ini bersifat termostabil sampai temperatur 95 oC. Aktivitas polimerase DNA bergantung dari jenisnya dan dari mana bakteri tersebut diisolasi . Sebagai contoh adalah enzim Pfu polimerase (diisolasi dari bakteri *Pyrococcus furiosus*) mempunyai aktivitas spesifik 10x lebih kuat dibandingkan aktivitas spesifik enzim Taq polimerase (diisolasi dari bakteri *Thermus aquaticus*). Penggunaan jenis polimerase DNA berkaitan erat dengan buffer PCR yang dipakai.

Dengan menggunakan teknik PCR, panjang fragmen DNA yang dapat diamplifikasi mencapai 35 kilo basa. Amplifikasi fragmen DNA pendek (kurang dari tiga kilo basa) relatif lebih mudah dilakukan. Untuk mengamplifikasi fragmen DNA panjang (lebih besar dari tiga kilo basa) memerlukan beberapa kondisi khusus, di antaranya adalah diperlukan polimerase DNA dengan aktivitas yang kuat dan juga buffer PCR dengan pH dan kapasitas tinggi (High-salt buffer).



Gambar 7. Kuantifikasi DNA dengan multipleks PCR

Untuk mendapatkan hasil PCR yang optimal perlu dilakukan optimasi proses PCR. Secara umum optimasi proses PCR dapat dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR tersebut. Optimasi kondisi berkaitan erat dengan faktor-

faktor seperti jenis polimerase DNA; suhu; konsentrasi, dalam hal ini berkaitan dengan dNTPs, MgCl₂ dan DNA polimerase; buffer PCR dan waktu.

d. Kuantifikasi dengan nanodrop

Kuantifikasi untuk mengukur konsentrasi DNA dan protein tiap sampel dapat dilakukan dengan menggunakan teknik nanodrop. Tingkat kemurnian DNA berkorelasi dengan kualitas DNA. Kualitas DNA dapat ditentukan dengan cara menghitung rasio antara nilai OD₂₆₀ dan nilai OD₂₈₀ pada sampel DNA yang diukur melalui spektrofotometer. DNA dinyatakan memiliki tingkat kemurnian 85% jika memiliki nilai rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ (optical density) berkisar antara 1.8–2.0. Adanya kontaminasi fenol atau protein pada hasil ekstraksi memiliki rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ < 1,7 juga menjelaskan bahwa DNA dikatakan terkontaminasi RNA jika memiliki rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ > 2,0. Hasil uji kemurnian DNA dengan nanodrop rasio OD 260/280 nm. Hasil pengukuran kualitas DNA secara kuantitatif yang meliputi konsentrasi dan kemurnian DNA.



Gambar 8. Alat nanodrop

3. Faktor yang mempengaruhi kuantifikasi dan kualifikasi DNA

Konsentrasi DNA hasil ekstraksi dapat dipengaruhi oleh kondisi sampel darah kering, seperti sedikitnya jumlah sel pada sampel dan terbawanya karat pada besi saat melakukan kerok dengan menggunakan skalpel steril hingga karat pada besi tersebut ikut tercampur dengan reagen reaksi yang dapat mengganggu proses ekstraksi.

Pemurnian DNA merupakan proses untuk memisahkan DNA dari lisat sel (protein, karbohidrat, lipid) dan kontaminan lainnya seperti materi ikutan lain yang mengakibatkan smear. Secara umum darah kering memberikan hasil ekstraksi DNA yang lebih sedikit dibandingkan darah segar pada volume darah yang sama. Hal ini dapat disebabkan karena pengaruh lama waktu penyimpanan yang menyebabkan kerusakan sel-sel darah termasuk DNA akibat terdegradasi secara alami atau oleh mikroorganisme (jamur dan bakteri).

Perbedaan konsentrasi hasil ekstraksi DNA dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti terjadinya degradasi sel oleh mikroba yang perlu dibuktikan dengan penelitian lebih lanjut. Berdasarkan data diatas menunjukkan bahwa ekstraksi DNA dari darah kering pada besi dan kayu yang disimpan dalam kurun waktu satu, dua, tiga dan empat bulan masih dapat memberikan hasil, namun terjadi penurunan kuantitas DNA sejalan dengan lama waktu penyimpanannya. Penurunan kuantitas DNA yang diperoleh juga terkait dengan kerusakan sel darah terutama sel darah putihnya. Sel eukariotik DNA terdapat di dalam inti yang membentuk suatu kesatuan untaian yang disebut kromosom, dimana sel darah putih merupakan sel darah yang berinti. Disamping pada inti sel, DNA juga terdapat di dalam mitokondria sel manusia, dimana mitokondria merupakan bagian sel yang menghasilkan energi (ATP).

Kemurnian DNA menjadi persyaratan dalam pemeriksaan Polimerase Chain Reaction (PCR) dimana kemurnian DNA 1-2 (ideal 1,8-2) memungkinkan dilakukan amplifikasi. Rerata kadar yang didapat pada jaringan lunak manusia yang tidak terpapar formalin sebesar 992.250 g/ml. Menurun drastis setelah paparan formalin selama 1 bulan yang menunjukkan rerata kadar sebesar 109.099 g/ml. Semakin lama waktu paparan formalin yang diberikan pada sampel jaringan lunak manusia, maka terdapat kecenderungan kadar DNA yang semakin menurun.

Perusakan postmortem pada tubuh manusia adalah proses yang sangat kompleks, dimulai dengan autolysis dan pembusukan serta diikuti oleh penguraian aerobik dan bakterial (pembusukan) dari bahan organik. Pada kondisi normal (kondisi fisiologis) ikatan yang paling labil pada struktur DNA adalah ikatan N-glikosil yang mengikat basa. Hidrolisis pada ikatan tersebut mengakibatkan hilangnya basa yang meninggalkan lokasi apurinik atau apirimidinik (AP Site), lokasi tersebut sering berlanjut dengan retakan pada struktur DNA.

C. Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing *BioTechniques* 43:Sii-Sv

Yudianto, A. & Sispitasari YE. 2016. Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, Vol. 1 (1).

Lanang GD, Junita K, Suaskara IBM. 2015. Ekstraksi DNA Sperma Pada Kondom Yang Dalam Rentang Waktu Berbeda Disimpan DNA Extraction Of Sperm In Condom Stored In Different Time Scales A.A. *Jurnal Biologi XVII (2) : 47 - 50*



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 8

Topik :

STR : amplifikasi DNA

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

STR : amplifikasi DNA

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

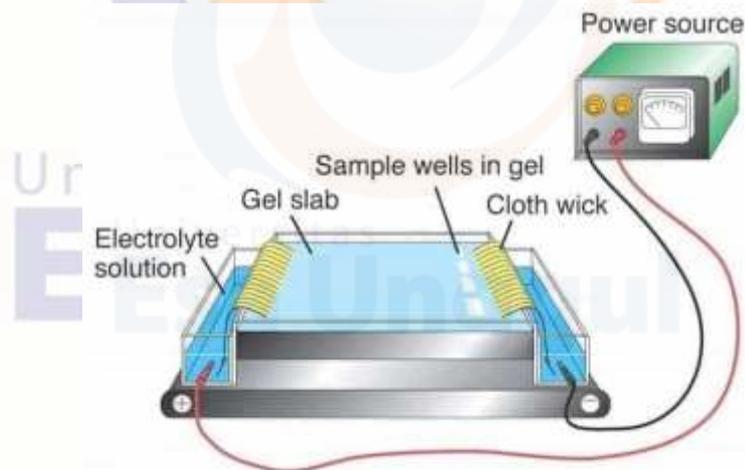
Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Amplifikasi DNA
2. Menganalisis proses amplifikasi DNA serta manfaatnya

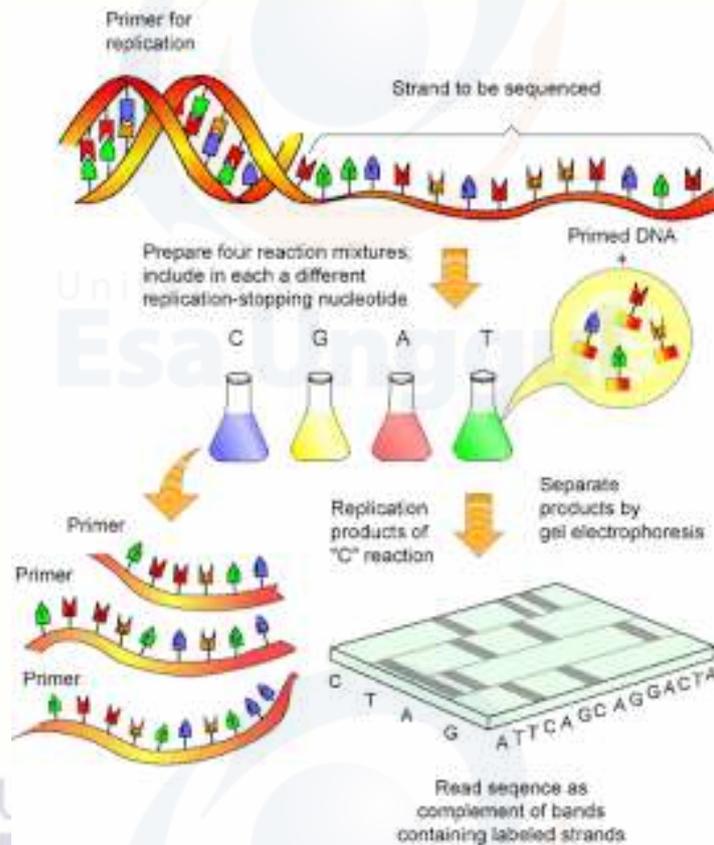
B. Uraian

1. Pendahuluan

Teknik Polymerase Chain Reacton (PCR) merupakan suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara in vitro. Teknik PCR pertama kali dikembangkan oleh Karry Mullis pada tahun 1985. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Selain Teknik PCR ditemukan juga teknik-teknik lain seperti teknik elektroforesis, teknik sekuensing DNA, yang telah merevolusi bidang sains dan teknologi khususnya di bidang diagnosa penyakit genetik, kedokteran forensik dan evolusi molekular.



Gambar 1. Teknik Elektroforesis



Gambar 2. Teknik Sekuensing DNA

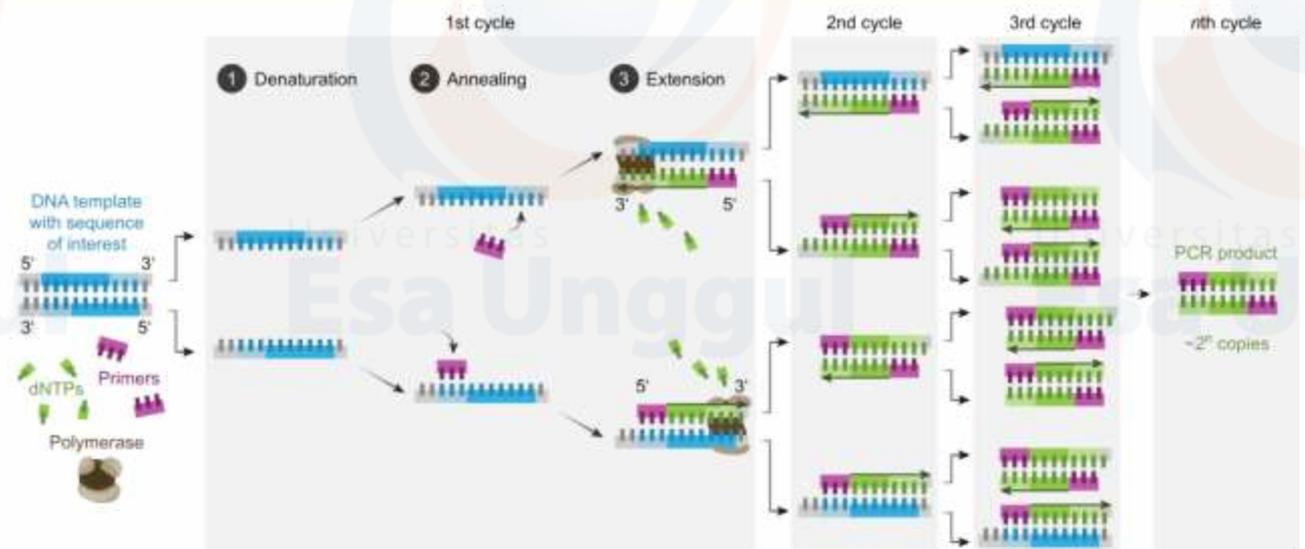
PRINSIP-PRINSIP UMUM PCR

Proses Teknik PCR memerlukan beberapa Langkah dan beberapa komponen. Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah templat DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates); buffer PCR; magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA.

Tahapan proses PCR melibatkan antara lain:

- (1) pra-denaturasi DNA templat;
- (2) denaturasi DNA templat;
- (3) penempelan primer pada templat (annealing);
- (4) pemanjangan primer (extension)
- (5) pemantapan (postextension).

Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA. Tahapan proses PCR dapat dilihat pada gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Tahapan proses PCR

PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda DNA templat (unamplified DNA) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suatu suhu tertentu untuk memberi waktu pada primer menempel (anneal primers) pada daerah tertentu dari target DNA. Polimerase DNA digunakan untuk memperpanjang primer (extend primers) dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP dan dTTP) dan buffer yang sesuai. Umumnya keadaan ini dilakukan antara 20 – 40 siklus. Target DNA yang diinginkan (short "target" product) akan meningkat secara eksponensial setelah siklus keempat dan DNA non-target (long product) akan meningkat secara linier seperti tampak pada bagan di atas. Jumlah kopi fragmen DNA target (amplicon) yang dihasilkan pada akhir siklus PCR dapat dihitung secara teoritis menurut rumus:

$$Y = (2^n - 2n)X$$

Y : jumlah amplicon

n : jumlah siklus

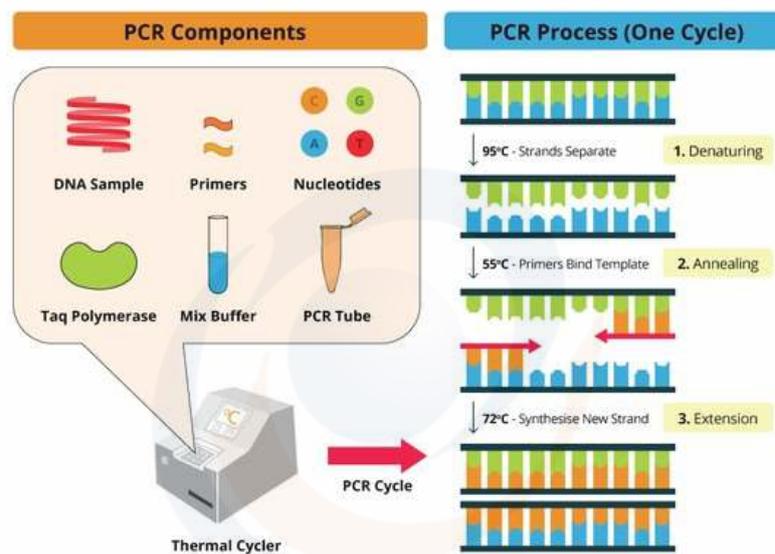
X : jumlah molekul DNA templat semula

Jika X = 1 dan jumlah siklus yang digunakan adalah 30, maka jumlah amplicon yang diperoleh pada akhir proses PCR adalah 1.074×10^9 . Dari fenomena ini dapat terlihat bahwa dengan menggunakan teknik PCR dimungkinkan untuk mendapatkan fragmen DNA yang diinginkan (amplicon) secara eksponensial dalam waktu relatif singkat. Umumnya jumlah siklus yang digunakan pada proses PCR adalah 30 siklus. Penggunaan jumlah

siklus lebih dari 30 siklus tidak akan meningkatkan jumlah amplicon secara bermakna dan memungkinkan peningkatan jumlah produk yang non-target. Perlu diingat bahwa di dalam proses PCR efisiensi amplifikasi tidak terjadi 100 %, hal ini disebabkan oleh target templat terlampaui banyak, jumlah polimerase DNA terbatas dan kemungkinan terjadinya reannealing untai target.

TEKNIK PCR

Dalam pelaksanaan Teknik PCR diperlukan komponen-komponen yang diperlukan antara lain; template DNA, DNA primer, buffer PCR dan MgCl, Enzym DNA polymerase.



Gambar 4. Komponen PCR dan proses PCR

1. Templat DNA

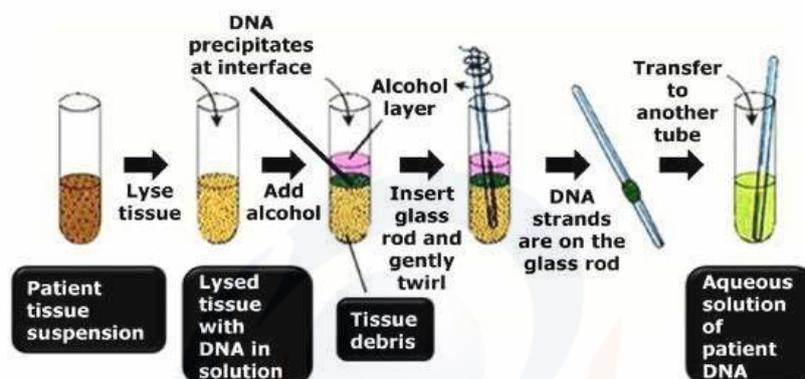
Fungsi DNA templat di dalam proses PCR adalah sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. Templat DNA ini dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid ataupun fragmen DNA apapun asal di dalam DNA templat tersebut mengandung fragmen DNA target yang dituju. DNA template ini merupakan hasil DNA yang berasal dari sampel yang akan diujikan.

Proses teknologi isolasi DNA template meliputi proses isolasi sampel (darah, air liur, jaringan epitel, kuku, rambut dan sebagainya). Penyiapan DNA templat untuk proses PCR dilakukan dengan menggunakan metode lisis sel ataupun dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid dengan metode standar. Proses lisis sel pada setiap jenis sel berbeda, tergantung jenis selnya dan tingkat kesulitan dari proses lisisnya.

Pemilihan metode yang digunakan di dalam penyiapan DNA templat tergantung dari tujuan eksperimen, apakah yang diisolasi ini berasal dari DNA inti, DNA plasmid atau DNA mitokondria. Pembuatan DNA templat dengan menggunakan metode lisis dapat digunakan secara umum, dan metode ini merupakan cara yang cepat dan sederhana untuk pendedahan DNA kromosom ataupun DNA plasmid. Prinsip metode lisis adalah merusak dinding sel tanpa harus merusak DNA yang diinginkan. Oleh karena itu kerusakan dinding sel umumnya dilakukan dengan cara memecahkan dinding sel menggunakan buffer lisis.

Komposisi buffer lisis yang digunakan tergantung dari jenis sampel. Beberapa contoh buffer lisis yang biasa digunakan mempunyai komposisi sebagai berikut: 5 mM Tris-Cl pH 8,5; 0,1 mM EDTA pH 8,5; 0,5 % Tween-20 dan 100 ug/mL Proteinase-K (ditambahkan dalam keadaan segar). Buffer lisis ini umumnya digunakan untuk jenis sampel yang berasal dari biakan, sel-sel epitel dan sel akar rambut. Contoh lain dari buffer lisis adalah buffer lisis K yang mempunyai komposisi sebagai berikut: buffer PCR (50mM KCl, 10-20mM Tris-Cl dan 2,5mM MgCl₂); 0,5 % Tween-20 dan 100 ug/mL Proteinase-K (ditambahkan dalam keadaan segar). Buffer lisis K ini biasanya digunakan untuk melisis sampel yang berasal dari sel darah dan virus.

Selain dengan cara lisis, penyiapan DNA templat dapat dilakukan dengan cara mengisolasi DNA kromosom ataupun DNA plasmid menurut metode standar yang tergantung dari jenis sampel asal DNA tersebut diisolasi. Metode isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid memerlukan tahapan yang lebih kompleks dibandingkan dengan penyiapan DNA dengan menggunakan metode lisis. Prinsip isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid adalah pemecahan dinding sel, yang diikuti dengan pemisahan DNA kromosom / DNA plasmid dari komponen-komponen lain. Dengan demikian akan diperoleh kualitas DNA yang lebih baik dan murni.



Gambar 5. Lisis inti sel

2. DNA Primer

Keberhasilan suatu proses PCR sangat tergantung dari primer yang digunakan. Di dalam proses PCR, primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan di amplifikasi dan sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses eksistensi DNA. Perancangan primer dapat dilakukan berdasarkan urutan DNA yang telah diketahui ataupun dari urutan protein yang dituju. Data urutan DNA atau protein bisa didapatkan dari database GenBank atau mendesain DNA primer sendiri dengan metode blast dan dilanjutkan metoda multiple alignment.

Query: gi|4557757 MutL protein homolog 1; DNA mismatch repair protein Mh1 [Homo sapiens]
Matching gi: 463989, 13905126, 27805155, 631299, 730028, 741682, 1079787

COG0323 assigned by Cognitor (36 best hits)

Best hits Common Tree Taxonomy Report 3D structures CDD-Search GI list

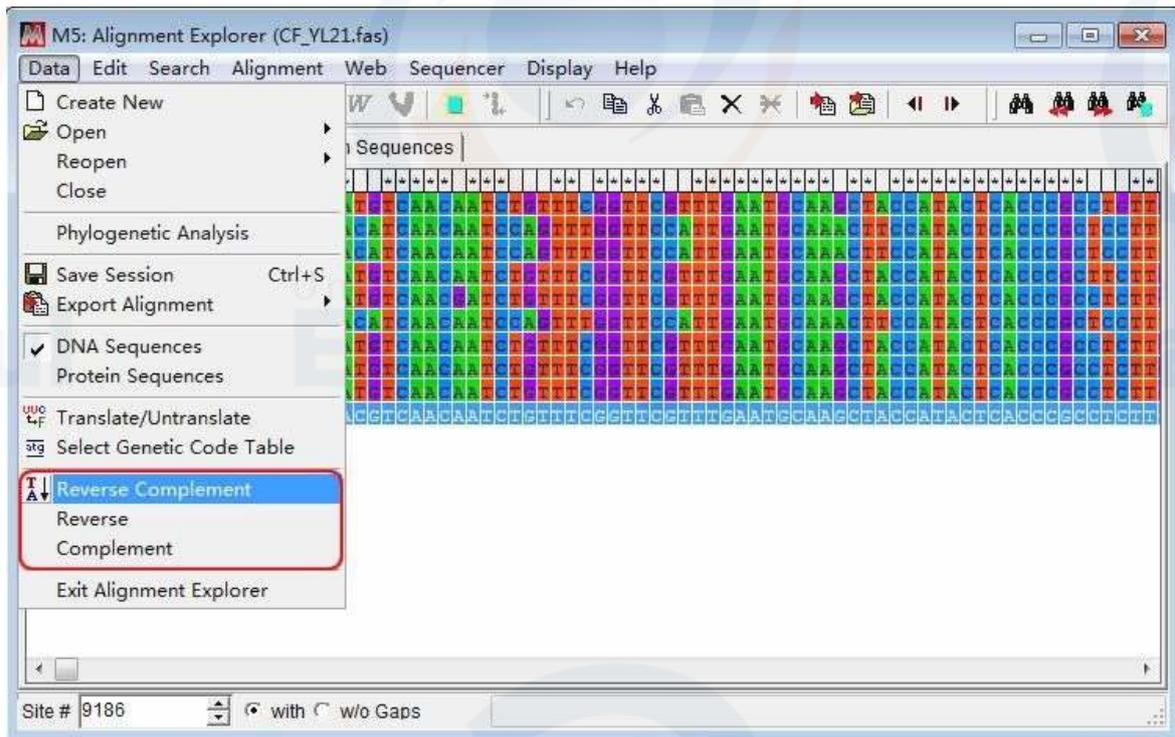
200 BLAST hits to 145 unique species Sort by taxonomy proximity

4 Archaea 134 Bacteria 22 Metazoa 11 Fungi 4 Plants 0 Viruses 9 Other Eukaryotae

Keep only Cut-Off 100 Select Reset

	SCORE	P	ACCESSION	GI	PROTEIN DESCRIPTION
=====	3869	1	AA002400	33303773	mutL-like 1, colon cancer, nonpolyposis type
=====	3868	27	AAA17374	466462	human homolog of E. coli mutL gene product,
=====	3833	27	AA05687	604369	hMLH1 gene product
=====	3442	21	XP_346838	34866308	hypothetical protein XP_346837 [Rattus norve
=====	3440	21	AAF64514	7595954	MutL homolog 1 protein [Mus musculus]
=====	3438	21	AAH21815	18255308	MutL protein homolog 1 [Mus musculus]
=====	3380	21	AA028506	1724118	mismatch repair protein [Rattus norvegicus]
=====	2828	21	BAC29954	26332473	unnamed protein product [Mus musculus]
=====	2633	15	AAS7507	34785440	Hypothetical protein MGC66301 [Danio rerio]
=====	1757	21	BAB23172	26328358	unnamed protein product [Mus musculus]
=====	1687	8	EAL00135	21287814	ENSANGP0000014016 [Anopheles gambiae str. P
=====	1662	8	AAF59117	7304079	CG11482-PA [Drosophila melanogaster]
=====	1641	8	AAC19117	3192877	mutL homolog [Drosophila melanogaster]

Gambar 6 Proses Blast dari program NCBI



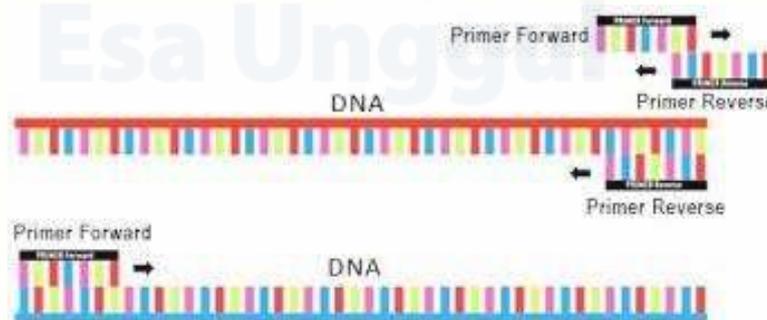
Gambar 8. Multiple alignment pada program Mega 7

Apabila urutan DNA maupun urutan protein yang dituju belum diketahui maka perancangan primer dapat didasarkan pada hasil analisis homologi dari urutan DNA atau protein yang telah diketahui mempunyai hubungan kekerabatan yang terdekat.

Dalam melakukan perancangan primer harus dipenuhi kriteria-kriteria sebagai berikut:

- a. Panjang primer Di dalam merancang primer perlu diperhatikan panjang primer yang akan dipilih. Umumnya panjang primer berkisar antara 18 – 30 basa. Primer dengan panjang kurang dari 18 basa akan menjadikan spesifisitas primer rendah. Untuk ukuran primer yang pendek kemungkinan terjadinya mispriming (penempelan primer di tempat lain yang tidak diinginkan) tinggi, ini akan menyebabkan berkurangnya spesifisitas dari primer tersebut yang nantinya akan berpengaruh pada efektifitas dan efisiensi proses PCR. Sedangkan untuk panjang primer lebih dari 30 basa tidak akan meningkatkan spesifisitas primer secara bermakna dan ini akan menyebabkan lebih mahal.
- b. Komposisi primer. Dalam merancang suatu primer perlu diperhatikan komposisinya. Rentetan nukleotida yang sama perlu dihindari, hal ini dapat menurunkan spesifisitas primer yang dapat memungkinkan terjadinya mispriming di tempat lain. Kandungan (G+C) (% jumlah G dan C) sebaiknya sama atau lebih

besar dari kandungan (G+C) DNA target. Sebab primer dengan % (G+C) rendah diperkirakan tidak akan mampu berkompetisi untuk menempel secara efektif pada tempat yang dituju dengan demikian akan menurunkan efisiensi proses PCR. Selain itu, urutan nukleotida pada ujung 3' sebaiknya G atau C. Nukleotida A atau T lebih toleran terhadap mismatch dari pada G atau C, dengan demikian akan dapat menurunkan spesifisitas primer.



Gambar 9. Cara kerja primer pada PCR

- c. Melting temperature (T_m) Melting temperatur (T_m) adalah temperatur di mana 50 % untai ganda DNA terpisah. Pemilihan T_m suatu primer sangat penting karena T_m primer akan berpengaruh sekali di dalam pemilihan suhu annealing proses PCR. T_m berkaitan dengan komposisi primer dan panjang primer. Secara teoritis T_m primer dapat dihitung dengan menggunakan rumus $[2(A+T) + 4(C+G)]$. Sebaiknya T_m primer berkisar antara 50 – 65 o C.
- d. Interaksi primer-primer Interaksi primer-primer seperti self-homology dan cross-homology harus dihindari. Demikian juga dengan terjadinya mispriming pada daerah lain yang tidak dikehendaki, ini semua dapat menyebabkan spesifisitas primer menjadi rendah dan di samping itu konsentrasi primer yang digunakan menjadi berkurang selama proses karena terjadinya mispriming. Keadaan ini akan berpengaruh pada efisiensi proses PCR. 2 4 Darmo Handoyo, Ari Rudiretna 3. dNTPs (deoxynucleotide triphosphates) dNTPs merupakan suatu campuran yang terdiri atas dATP (deoksiadenosin trifosfat), dTTP (deoksitimidin trifosfat) , dCTP (deoksisitidin trifosfat) dan dGTP (deoksiguanosin trifosfat). Dalam proses PCR dNTPs bertindak sebagai building block DNA yang diperlukan dalam proses ekstensi DNA. dNTP akan menempel pada gugus –OH pada ujung 3' dari primer membentuk untai baru yang komplementer dengan untai DNA templat. Konsentrasi optimal dNTPs untuk proses PCR harus ditentukan.

Self-dimerization

- Primers may form inter-primer homology with its own copies.



Gambar 10. Homology primer

4. Buffer PCR dan MgCl₂

Reaksi PCR hanya akan berlangsung pada kondisi pH tertentu. Oleh karena itu untuk melakukan proses PCR diperlukan buffer PCR. Fungsi buffer di sini adalah untuk menjamin pH medium. Selain buffer PCR diperlukan juga adanya ion Mg²⁺, ion tersebut berasal dari berasal MgCl₂. MgCl₂ bertindak sebagai kofaktor yang berfungsi menstimulasi aktivitas DNA polimerase. Dengan adanya MgCl₂ ini akan meningkatkan interaksi primer dengan templat yang membentuk kompleks larut dengan dNTP (senyawa antara). Dalam proses PCR konsentrasi MgCl₂ berpengaruh pada spesifisitas dan perolehan proses. Umumnya buffer PCR sudah mengandung senyawa MgCl₂ yang diperlukan. Tetapi disarankan sebaiknya antara MgCl₂ dan buffer PCR dipisahkan supaya dapat dengan mudah dilakukan variasi konsentrasi MgCl₂ sesuai yang diperlukan.

5. Enzim Polimerase DNA Enzim polimerase DNA berfungsi sebagai katalisis untuk reaksi polimerisasi DNA. Pada proses PCR enzim ini diperlukan untuk tahap ekstensi DNA. Enzim polimerase DNA yang digunakan untuk proses PCR diisolasi dari bakteri termofilik atau hipertermofilik oleh karena itu enzim ini bersifat termostabil 2 5 Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR) sampai temperatur 95°C. Aktivitas polimerase DNA bergantung dari jenisnya dan dari mana bakteri tersebut diisolasi. Sebagai contoh adalah enzim Pfu polimerase (diisolasi dari bakteri *Pyrococcus furiosus*) mempunyai aktivitas spesifik 10x lebih kuat dibandingkan aktivitas spesifik enzim Taq polimerase (diisolasi dari bakteri *Thermus aquaticus*). Penggunaan jenis polimerase DNA

berkaitan erat dengan buffer PCR yang dipakai. Dengan menggunakan teknik PCR, panjang fragmen DNA yang dapat diamplifikasi mencapai 35 kilo basa. Amplifikasi fragmen DNA pendek (kurang dari tiga kilo basa) relatif lebih mudah dilakukan. Untuk mengamplifikasi fragmen DNA panjang (lebih besar dari tiga kilo basa) memerlukan beberapa kondisi khusus, di antaranya adalah diperlukan polimerase DNA dengan aktivitas yang kuat dan juga buffer PCR dengan pH dan kapasitas tinggi (High-salt buffer). OPTIMASI PCR Untuk mendapatkan hasil PCR yang optimal perlu dilakukan optimasi proses PCR. Secara umum optimasi proses PCR dapat dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR tersebut.

Optimasi kondisi berkaitan erat dengan faktor-faktor seperti jenis polimerase DNA; suhu; konsentrasi, dalam hal ini berkaitan dengan dNTPs, MgCl₂ dan DNA polimerase; buffer PCR dan waktu.

1. Jenis polimerase DNA Kemampuan mengkatalisis reaksi polimerasi DNA pada proses PCR yang terjadi pada tahap ekstensi untuk DNA rantai panjang akan berbeda dengan untuk DNA rantai pendek. Penggunaan jenis DNA polimerase tergantung pada panjang DNA target yang akan diamplifikasi. Untuk panjang fragmen DNA lebih besar dari tiga kilobasa akan memerlukan jenis polimerase dengan aktivitas tinggi.
2. Konsentrasi dNTPs, MgCl₂; polimerase DNA Konsentrasi optimal dNTPs ditentukan oleh panjang target DNA yang diamplifikasi. Untuk panjang target DNA kurang dari satu kilobasa biasanya digunakan konsentrasi dNTPs sebanyak 100 uM, sedangkan untuk panjang target DNA lebih besar dari satu kilobasa diperlukan konsentrasi dNTPs sebanyak 200 uM. Umumnya konsentrasi optimal MgCl₂ berkisar antara 1,0 – 1,5 mM. Konsentrasi MgCl₂ yang terlalu rendah akan menurunkan perolehan PCR. Sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi akan menyebabkan akumulasi produk non target yang disebabkan oleh terjadinya mispriming. Jumlah polimerase DNA yang digunakan tergantung pada panjang fragmen DNA yang akan diamplifikasi. Untuk panjang fragmen DNA kurang dari dua kilobasa diperlukan 1,25 – 2 unit per 50 uL campuran reaksi, sedangkan untuk panjang fragmen DNA lebih besar dari dua kilobasa diperlukan 3 – unit per 50 uL campuran reaksi.
3. Suhu Pemilihan suhu pada proses PCR sangat penting karena suhu merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan suatu PCR. Dalam hal ini suhu

berkaitan dengan proses denaturasi DNA templat, annealing dan ekstensi primer. Suhu denaturasi DNA templat berkisar antara 93 – 95° C, ini semua tergantung pada panjang DNA templat yang digunakan dan juga pada panjang fragmen DNA target. Suhu denaturasi yang terlalu tinggi akan menurunkan aktivitas polimerase DNA yang akan berdampak pada efisiensi PCR. Selain itu juga dapat merusak DNA templat, sedangkan suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan proses denaturasi DNA templat tidak sempurna. Pada umumnya suhu denaturasi yang digunakan adalah 94° C.

Secara umum suhu annealing yang digunakan berkisar antara 37 - 60° C. Pemilihan suhu annealing berkaitan dengan T_m primer yang digunakan untuk Penentuan waktu untuk proses annealing berkaitan dengan panjang primer. Untuk panjang primer 18 – 22 basa cukup dengan 30 detik, sedangkan untuk panjang primer lebih besar dari 22 basa diperlukan waktu annealing 60 detik. Pemilihan waktu ekstensi primer tergantung pada panjang fragmen DNA yang akan diamplifikasi. Secara umum untuk mengamplifikasi setiap satu kilo basa DNA diperlukan waktu 30 – 60 detik. Pada setiap melakukan PCR harus dilakukan juga kontrol positif, ini diperlukan untuk memudahkan pemecahan masalah apabila terjadi hal yang tidak diinginkan. Selain itu juga harus dilakukan terhadap kontrol negatif untuk menghindari kesalahan positif semu.

4. Teknik Amplifikasi

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu teknik perbanyakan (amplifikasi) potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vivo* yang bersifat semi konservatif. (Fatchiyah 2014). Adapun tahap-tahap dari PCR yaitu :

1. Denaturasi

Pada tahap ini molekul DNA dipanaskan sampai suhu 94°C yang menyebabkan terjadinya pemisahan untai ganda DNA menjadi untai DNA tunggal. Untai DNA tunggal inilah yang menjadi cetakan bagi untai DNA baru yang akan dibuat.

2. Penempelan (Annealing)

Enzim Taq polimerase dapat memulai pembentukan suatu untai DNA baru jika ada seuntai DNA berukuran pendek (DNA yang mempunyai panjang sekitar 10 sampai 30 pasang basa) yang menempel pada untai DNA target yang telah terpisah. DNA yang

pendek ini disebut primer. Agar suatu primer dapat menempel dengan tepat pada target, diperlukan suhu yang rendah sekitar 55°C selama 30-60 detik.

3. Pemanjangan (Ektension)

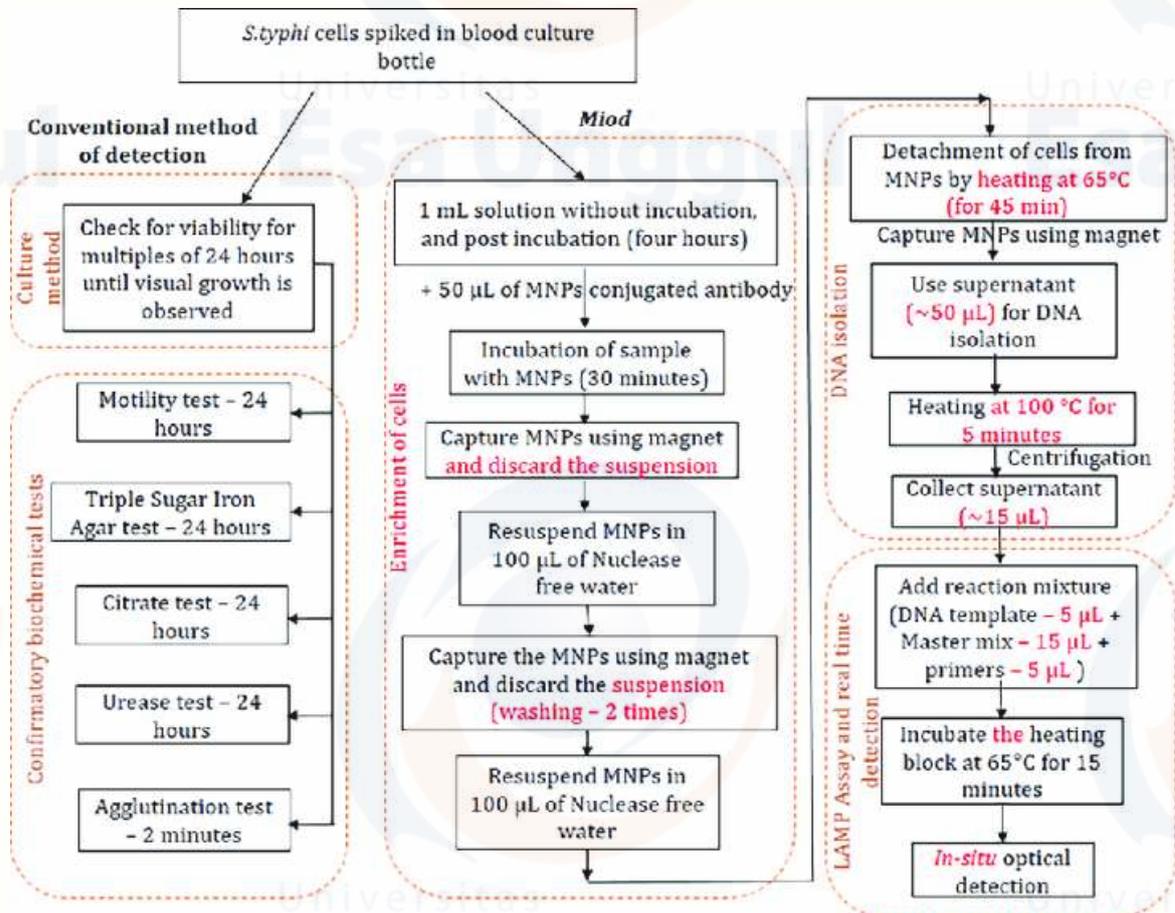
Setelah primer menempel pada untai DNA target, enzim DNA polymerase akan memanjangkan sekaligus membentuk DNA yang baru dari gabungan antara primer, DNA cetakan dan nukleotida.

Keunggulan metode PCR adalah kemampuannya dalam melipatgandakan suatu fragmen DNA sehingga dapat mencapai 109 kali lipat. Keberhasilan PCR ditentukan oleh beberapa hal. Konsentrasi dan kualitas DNA Konsentrasi DNA sebesar 0,01-0,1 µg setiap µl larutan template sudah cukup baik untuk PCR namun yang paling penting adalah DNA harus bebas dari pengotor seperti protein atau bahan-bahan yang tersisa saat purifikasi seperti fenol atau alkohol. Temperatur Annealing dari kedua primer Ukuran dan komposisi primer sangat mempengaruhi temperatur penempelan primer terhadap untaian DNA target. Konsentrasi MgCl₂ Konsentrasi MgCl₂ sangat mempengaruhi spesifikasi produk PCR, aktivitas serta kekhususan kerja enzim, penguatan primer mencapai suhu optimumnya (primer annealing) dan penguatan fungsi primer dalam sintesis pemanjangan rantai nukleotida. Enzim Polimerase Konsentrasi enzim yang digunakan sangat tergantung dari jenis enzim. Pada umumnya konsentrasi optimum berkisar antara 1,0-2,5 unit enzim setiap volume reaksi 50 µl. Konsentrasi dan kualitas primer Kualitas primer sangat tergantung pada kualitas oligoprimernya dan OD (optical density).

Komponen yang diperlukan untuk reaksi PCR yaitu DNA cetakan. Merupakan keseluruhan DNA sampel yang di dalamnya terkandung fragmen DNA target. Primer, buffer dan DNA Polimerase, DNA polymerase merupakan enzim yang stabil dalam pemanasan dan umumnya digunakan enzim Taq DNA polimerase (Taq = *Thermus aquaticus*). Enzim ini tetap stabil mengamplifikasi DNA walaupun amplifikasi berjalan pada suhu mendekati titik didih air. Buffer / Dapar digunakan umumnya mengandung MgCl₂ yang mempengaruhi stabilitas dan kerja enzim polimerase. dNTPS atau deoxynukleotide Triphosphates merupakan suatu nukleotida bebas yang berperan dalam perpanjangan primer melalui pembentukan pasangan basa dengan nukleotida dari DNA target.

Hasil PCR yang baik jika DNA yang diPCR juga baik khususnya dari segi kualitas. Primer adalah suatu oligonukleotida yang memiliki 10 sampai 40 pb (pb = pasangan basa) dan merupakan komplementer dari DNA target. Pemilihan primer yang tidak sesuai dapat menyebabkan tidak terjadinya reaksi polimerasi antara gen target dengan primer. Berikut adalah kriteria pemilihan primer panjang primer : 15-30 pb, kandungan GC sekitar 50%, temperatur penempelan kedua primer tidak jauh berbeda, dan urutan nukleotida yang sama

harus dihindari. Ciri Hasil Amplifikasi DNA yang baik yaitu di mana pita-pita DNA tidak semir atau jernih.



Gambar 11. Flow- chart amplifikasi DNA

Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. *JBP Vol. 14, No. 2* (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing *BioTechniques* 43:Sii-Sv



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 9

Topik :

STR: Elektroforesis kapiler

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

Universitas
Esa Unggul

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

STR : Elektroforesis Kapiler

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Elektroforesis kapiler
2. Menganalisis proses elektroforesis kapiler serta manfaatnya

B. Uraian

1. Pendahuluan

Diagnostik molekuler memainkan peran utama dalam dunia ilmiah. Identifikasi dan pemurnian DNA, RNA, dan Protein adalah langkah penting dalam prosedur diagnostik. Elektroforesis adalah teknik yang memisahkan dan mengidentifikasi biomolekul dalam elektroforesis gel dan elektroforesis gel kapiler yang jauh lebih maju. Elektroforesis gel dilakukan dalam bidang vertikal atau horisontal menggunakan gel polimer ukuran pori standar sedangkan elektroforesis kapiler dilakukan dalam tabung kapiler dengan cairan polimer atau gel. Ini adalah perbedaan antara elektroforesis kapiler dan elektroforesis gel. Setelah menyelesaikan teknik elektroforesis, biomolekul selanjutnya diproses untuk mendapatkan informasi tingkat yang lebih tinggi melalui hibridisasi atau melalui teknik seperti sidik jari.

Elektroforesis berarti Electro = medan listrik + Phoresis = migrasi. Jadi seperti namanya, "Elektroforesis adalah metode pemisahan di mana molekul bermuatan bermigrasi dalam kecepatan diferensial di medan listrik yang diterapkan." Molekul bermuatan di bawah pengaruh medan listrik bermigrasi ke arah elektroda bermuatan berlawanan.

Molekul-molekul dengan muatan positif bergerak menuju katoda dan molekul negative bergerak ke arah Anoda. Migrasi ini disebabkan oleh muatan pada molekul dan potensi yang diterapkan di seluruh elektroda. Sampel yang diuji ditempatkan di salah satu ujung kertas di dekat salah satu elektroda. Ketika listrik diterapkan, molekul-molekul mulai bergerak ke masing-masing elektroda.

Namun pergerakannya dipengaruhi oleh berat molekul dari molekul tersebut. Jadi ketika campuran ditempatkan pada kertas elektroforesis atau agarosa, pita yang berbeda terlihat di sepanjang kertas setelah proses.



Gambar 1 pita-pita DNA hasil pergerakan karena ditarik oleh arus listrik yang bermuatan negative

Elektroforesis adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan biomolekul berdasarkan muatan partikel, ukuran partikel, dan bentuk partikel. Migrasi molekul, yang dikenal sebagai mobilitas elektroforesis, tergantung pada jenis polimer / gel yang digunakan, ukuran pori-nya, tegangan yang diberikan, waktu berjalan dan perbandingan permukaan dan volume. Ada berbagai jenis teknik elektroforesis berdasarkan pada jenis biomolekul yang digunakan. Jenis elektroforesis pertama yang ditemukan adalah kertas elektroforesis di mana kertas nitroselulosa digunakan sebagai media untuk pemisahan biomolekul. Prinsip elektroforesis gel di mana gel ukuran pori yang berbeda digunakan untuk memisahkan biomolekul, ditemukan kemudian.

Teknik elektroforesis gel lebih lanjut dimodifikasi untuk meningkatkan akurasi teknik, dan salah satu modifikasi tersebut adalah elektroforesis kapiler. Perbedaan utama antara elektroforesis kapiler dan elektroforesis gel adalah bahwa elektroforesis gel dilakukan dalam bidang vertikal atau horizontal menggunakan gel polimer ukuran pori standar sedangkan elektroforesis kapiler dilakukan dalam tabung kapiler dengan cairan polimer atau gel.

Prinsip Utama dari Elektroforesis

- Elektroforesis adalah salah satu teknik yang banyak digunakan dalam biokimia molekuler, mikrobiologi, penelitian biomedis. Ini adalah jenis metode pemisahan protein yang bergantung pada ukuran protein untuk memisahkan campuran.
- Elektroforesis adalah salah satu teknik analisis yang sangat efektif dan metode tunggal untuk pemisahan protein untuk western blot, studi RNA, dll. Tetapi, di sisi

negatif itu juga prosedur yang memakan waktu, mahal dan keterampilan teknis yang kurang disukai dalam perawatan kesehatan.

Elektroforesis adalah teknik analisis kualitatif dan kuantitatif. Elektroforesis mirip dengan teknik pemisahan lain seperti kromatografi, tetapi berbeda mengenai jenis sampel yang dianalisis, metode yang digunakan untuk pemisahan, prinsip yang digunakan. Hal ini disebabkan oleh laju diferensial dari pergerakan molekul berdasarkan beratnya. Molekul-molekul dengan berat molekul lebih tinggi bergerak lebih lambat. Sementara mereka yang berbobot kecil bergerak lebih cepat. Selain itu, ukuran molekul juga mempengaruhi pergerakan. Ukuran molekul yang lebih besar mengalami lebih banyak gesekan daripada yang lebih kecil dalam gerakan. Molekul-molekul ini bermigrasi dengan kecepatan dan panjang yang berbeda berdasarkan muatan, massa, dan bentuknya.

Jenis elektroforesis dan tekniknya.

Elektroforesis secara luas dapat dibagi menjadi dua jenis

1. Elektroforesis lempengan
2. Elektroforesis kapiler.

Metode lempengan adalah metode klasik yang banyak digunakan untuk skala industri. prosesnya lambat, memakan waktu dan tebal. Namun, ini adalah satu-satunya metode yang tersedia untuk pemisahan protein seperti enzim, hormon, antibodi dan nukleotida seperti DNA dan RNA.

Elektroforesis lempeng ini selanjutnya dibagi menjadi tiga jenis berdasarkan prinsip yang digunakan untuk pemisahan.

- a. Elektroforesis zona
- b. Isoelectrofocusing
- c. Immunoelectrophoresis:

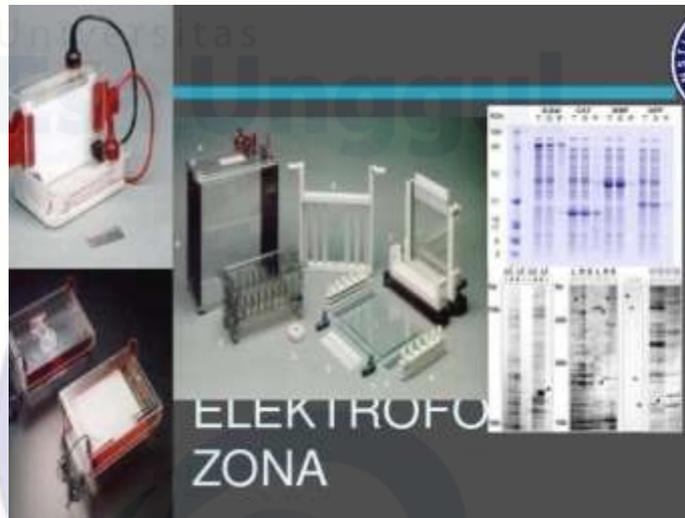
a. Elektroforesis zona

Di sini partikel bermuatan dipisahkan menjadi zona atau pita yang berbeda. elektroforesis jenis ini di bagi menjadi

- Elektroforesis kertas.

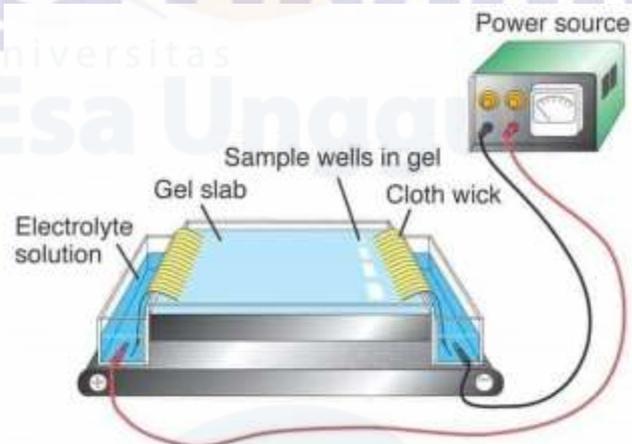
Elektroforesis kertas adalah teknik yang menggunakan kertas saring Whatman No.1 yang dibasahi oleh buffer dan kemudian dihubungkan pada dua ujung ke dua elektroda yang bermuatan berlawanan. Kemudian sampel diterapkan ke satu ujung dan membiarkan pemisahan komponen di bawah gradien listrik. Setelah pemisahan, kertas dikeringkan dan diwarnai untuk mendapatkan pita berwarna. Pita

berwarna ini diakui untuk sifat sampel dengan membandingkan dengan standar. Untuk sampel serum, lima pita protein dapat dipisahkan dengan kertas elektroforesis.



Gambar 3. Elektroforesis Zona

- Elektroforesis gel
Elektroforesis gel adalah teknik yang serupa di mana alih-alih kertas, gel yang terbuat dari agarosa atau SDS (sodium dodecyl sulfate).



Gambar 3. Elektroforesis gel

Skema dari Elektroforesis gel

- Pemisahan ini lebih efisien daripada jenis kertas karena laju berjalannya molekul lambat dan area pemisahannya lebih besar dengan ketebalan.
- Sampel diterapkan dan mengalami medan listrik yang dapat menyebabkan pemisahan molekul. Molekul-molekul ini membentuk pita dan dapat dikenali dengan pewarnaan dan membandingkan dengan pita sampel standar.

Metode ini lebih efektif daripada kertas dan misalnya dari sampel serum, 15 pita protein dapat diisolasi.

b. Isoelectrofocusing:

Di sini pH isoelektrik diatur pada fokus yang berbeda dan karenanya molekul diimobilisasikan ke titik isoelektriknya. Mereka tidak bergerak menuju elektroda tetapi tetap pada pH isoelektrik tertentu. Ini bahkan lebih efisien untuk memisahkan protein, dan dari serum, 40 pita protein dapat dibentuk.

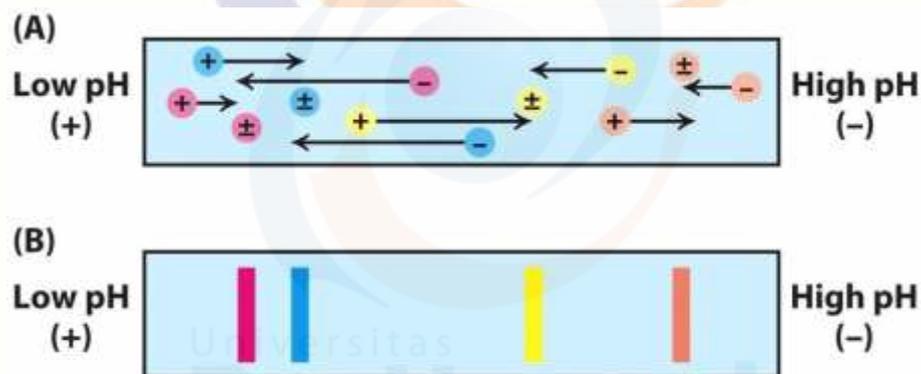


Figure 3.11
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

Gambar 4. Prinsip kerja isoelektrofocussing

c. Immunoelectrophoresis:

Ini adalah metode dengan kombinasi prinsip-prinsip dari kedua elektroforesis dengan reaksi imun. Pertama, protein dipisahkan pada kertas elektroforesis. Kemudian antibodi dibiarkan menyebar melalui kertas dan bereaksi dengan molekul protein terpisah dalam pita. Kedua metode ini sangat spesifik dan sangat sensitif serta banyak digunakan dalam mikrobiologi.



Gambar 5 Prinsip imunoelektroforesis

Elektroforesis Gel

Elektroforesis gel adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan terutama asam nukleat, protein atau asam amino berdasarkan muatan, ukuran, dan bentuknya. Teknik ini menggunakan gel fisik, yang merupakan zat polimer, sebagai media pemisahan. Gel yang paling sering digunakan adalah Agarose (untuk pemisahan asam nukleat) dan Polyacrylamide (untuk pemisahan protein). Peralatan elektroforesis gel berisi baki gel untuk menyiapkan gel, sisir casting untuk mempersiapkan sumur, tangki penyangga, elektroda - positif (anoda) dan negatif (katoda) dan unit suplai tegangan. Molekul seperti DNA atau RNA, yang bermuatan negatif, bergerak dari katoda ke anoda dan molekul yang bermuatan positif bergerak sebaliknya. Persiapan gel dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Jika resolusi tinggi atau pemisahan molekul diperlukan, gel konsentrasi tinggi dengan ukuran pori yang lebih rendah harus disiapkan. Molekul-molekul yang dipisahkan pada matriks gel diamati setelah teknik pewarnaan. Molekul yang terpisah muncul sebagai pita pada matriks gel.

Elektroforesis gel digunakan dalam diagnostik molekuler seperti sidik jari DNA untuk menentukan keberadaan fragmen DNA / RNA tertentu atau protein. Elektroforesis gel juga menentukan kemurnian sampel biomolekul yang diekstraksi. Elektroforesis gel dilakukan sebagai langkah awal untuk in dan hibridisasi dan sebagai analisis konfirmasi setelah pengurutan.

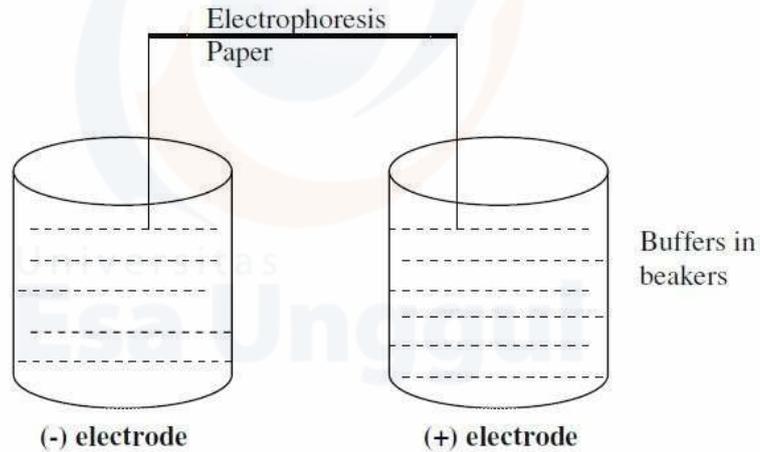
Elektroforesis Kapiler

Elektroforesis kapiler adalah modifikasi dari elektroforesis gel yang menggunakan prinsip pemisahan yang sama berdasarkan muatan, ukuran molekul, tetapi dilakukan dalam tabung kapiler dengan zat gel atau polimer cair. Elektroforesis kapiler digunakan

untuk memisahkan asam amino, protein, lipid, karbohidrat, dan nukleotida dengan resolusi tinggi yang dilakukan pada pipa kapiler berisi buffer. Metode ini mulai digunakan secara luas pada akhir tahun 1940. Untuk aplikasi dalam berbagai bidang seperti bioteknologi, kimia, lingkungan, dan analisis farmasi. Elektroforesis kapiler menggunakan listrik bertegangan tinggi yang menyebabkan semua komponen ion atau molekul netral bergerak ke katoda. Deteksi dapat dilakukan dengan teknik pendeteksian spektrometri atau elektrokimia. Teknik pemisahan ini dipengaruhi oleh tegangan listrik, koefisien difusi, panjang, dan diameter pipa kapiler, serta konsentrasi sampel. Metode ini memiliki efisiensi dan selektivitas yang baik namun boros listrik karena menggunakan tegangan tinggi dan alatnya juga mahal.

Kapiler dibuat dari silika leburan, dan setiap tabung kapiler memiliki diameter internal 50-100 μ m dan panjang 25-100cm. Sampel disuntikkan ke dalam tabung kapiler yang mengandung bahan polimer dan dipisahkan jauh lebih cepat daripada elektroforesis gel konvensional. Sistem kapiler terlindungi dengan baik di dalam jaket isolator yang melindungi sampel dari kontaminasi apa pun. Kapiler dapat diisi dengan polimer cair seperti hidroksietil selulosa atau gel resolusi tinggi seperti poliakrilamida. Elektroforesis kapiler memberikan resolusi yang lebih besar; karenanya pemisahan lebih akurat. Elektroforesis kapiler menggunakan sistem detektor otomatis melalui analisis spektrofotometri. Ini karena rasio luas permukaan yang lebih tinggi. Elektroforesis kapiler digunakan dalam situasi seperti dalam forensik di mana akurasi yang lebih tinggi diperlukan dan tidak umum digunakan karena merupakan teknik yang mahal.

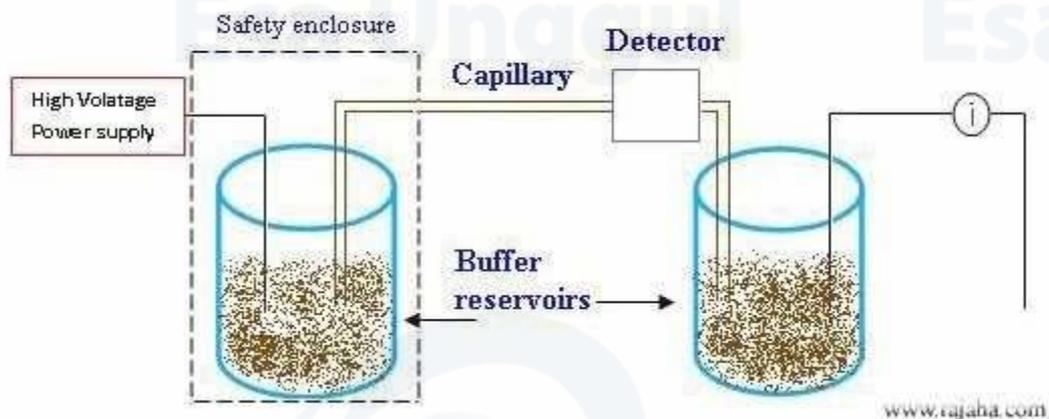
Persamaan antara elektroforesis kapiler dan elektroforesis gel adalah keduanya berperan memisahkan molekul dalam kedua teknik didasarkan pada muatan dan ukuran molekul. Kedua teknik dapat digunakan untuk memisahkan asam nukleat dan protein. Volume sampel dari kedua teknik adalah sama. Kedua teknik menggunakan buffer untuk memfasilitasi pemisahan.



Gambar 6. Prinsip kerja elektroforesis kapiler

Pada elektroforesis kapiler terjadi proses pemisahan terjadi di dalam tabung kapiler. Elektroforesis kapiler adalah metode elektroforesis canggih. Ini dikembangkan dengan maksud untuk meminimalkan waktu yang dibutuhkan untuk pemisahan dan analisis dalam elektroforesis lempengan. Elektroforesis kapiler ini membutuhkan sampel kecil dalam kisaran jika 0,1 hingga 10 μl sedangkan metode lempeng membutuhkan dalam μl . Juga, metode ini menghasilkan pemisahan dengan kecepatan tinggi dan resolusi tinggi. Selain itu, komponen yang terpisah yang keluar dari salah satu ujung kapiler, segera dianalisis oleh detektor yang dipasang di ujung tabung.

- Instrumentasi adalah sebagai berikut



Gambar 7. Instrumentasi elektroforesisi kapiler

Aplikasi elektroforesis:

1. Untuk memisahkan molekul kompleks: Banyak molekul biologis kompleks seperti vitamin B12. Antibiotik, protein dapat dipisahkan secara efisien dengan elektroforesis. Ini dimungkinkan karena perbedaan muatan di antara campuran.
2. Untuk analisis molekul asam nukleat seperti studi RNA dan DNA. Molekul rantai panjang ini dapat dianalisis hanya setelah pemisahan setelah elektroforesis. Ini membantu menentukan ukuran atau kerusakan pada molekul DNA atau RNA.

Instrumentasi Elektroforesis Kapiler

Alat elektroforesis terdiri dari sumber listrik, anoda dan katoda masing-masing ditempatkan dalam larutan buffer, tabung kapiler, detektor dan tempat sampel seperti pada gambar. Tabung kapiler berdiameter dalam 25-75 μ m, jika timbul efek panas selama analisis, maka dapat digunakan diameter dalam yang kecil dengan tebal lapisan silika yang tipis.

Larutan buffer ditahan dalam tabung kapiler dengan diameter dalam berkisar 25 - 75 μ m. dengan menggunakan tabung kapiler maka resiko panas atau interaksi dan degradasi analit dengan bahan pendukung dapat diatasi. Metode ini termasuk metode bebas cairan. Sampel dimasukkan pada salah satu ujungnya dan akan bergerak ke ujung tabung yang lainnya. Seperti halnya kromatografi, akan dihasilkan electrophoregram yang memberikan informasi baik kualitatif maupun kuantitatif.

Tempat memasukkan sampel, Tabung kapiler sebelumnya diisi dengan larutan buffer, sampel dimasukkan dengan jalan mencelupkan salah satu ujung tabung ke dalam larutan sampel. Dengan bantuan tekanan atau memberikan terdorong masuk ke dalam tabung. Pengaturan voltage, Migrasi solut dapat terjadi bila diberikan medan listrik.

Karakteristik elektroforesis kapiler yaitu :

1. Menggunakan pipa kapiler pada pemisahan elektroforesis.
2. Memanfaatkan medan listrik berkekuatan tinggi, lebih dari 5 V/cm.
3. Menggunakan detektor berteknologi modern, sebagaimana yang ada pada kromatogram.
4. Efisiensinya kadangkala sama dengan kromatografi gas kapiler, namun juga bisa lebih besar.
5. Membutuhkan waktu beberapa menit untuk mengamati sampel.
6. Mudah diotomatiskan untuk menganalisis dalam segi kuantitatif, dan mudah digunakan.

7. Terbatas dalam mengkonsumsi atau melibatkan sejumlah reagent.
8. Metode ini lebih aplikatif untuk menyeleksi dalam ukuran luas, dibandingkan dengan teknik separasi lainnya.

Dalam kromatografi modern, efisiensi (N) merupakan factor penentu keberhasilan pemisahan. Oleh karena keluaran elektroforesis kapiler menyerupai kromatogram maka peak elektroforesis merupakan indicator efisiensi, semakin tajam suatu peak semakin efisiensi pemisahan tersebut. Selain efisiensi pemisahan elektroforesis dapat dihitung dengan cara yang sama dengan HPLC.

Salah satu keuntungan utama dari CE adalah dibutuhkan peralatan yang sederhana. CE terdiri dari satu daya tegangan tinggi, penyangga reservoir, sebuah kapiler, dan sebuah detektor. Pengaturan dasar dapat diuraikan dengan peningkatan fitur seperti sampel, peralatan injeksi ganda, mengontrol suhu kapiler, pengaturan penyediaan daya, detektor ganda, dan kumpulan fraksi.

Berbagai model elektroforesis kapiler dapat dilakukan menggunakan instrumen CE. Dasar dari perbedaan model pemisahan dapat dikarenakan bahwa elektroforesis kapiler telah dikembangkan dari suatu kombinasi elektroforesis dan teknik kromatografi. Istilah umumnya ini dapat dianggap sebagai pemisahan elektroforesis dari sejumlah senyawa di dalam tabung sempit. Walaupun sebagian besar aplikasi telah dilakukan menggunakan cairan sebagai media pemisah, teknik elektroforesis kapiler dimana kapiler berisi elektroforesis gel, lapisan kromatografi.

Instrumentasi CE terdiri dari :

1. Pipa kapiler

Pipa kapiler bertindak sebagai kolom tempat proses pemisahan pengganti kertas atau agar-agar pada elektroforesis konvensional. Pipa kapiler terbuat dari gelas dengan diameter dalam berkisar antara 25-100 μm dan panjang antara 50-100 cm. Semakin kecil ukuran diameter pipa kapiler maka semakin besar harga N. Oleh karena itu, semakin besar diameter (>100) maka pemisahan semakin tidak efisien.

2. Larutan buffer

Pipa kapiler diisi dengan larutan buffer dan kedua ujung pipa kapiler tersebut tercelup dalam larutan buffer. Larutan buffer berfungsi sebagai larutan elektrolit untuk menghantarkan arus listrik dan untuk pengontrol muatan molekul. Karena molekul dapat bermuatan positif, negative, atau netral bergantung pada pH larutan

dan sebagaimana fungsi buffer dalam menahan pH. Dengan kata lain, pH buffer dapat mengontrol selektivitas pemisahan elektroforesis,

3. Sumber arus searah

Dalam elektroforesi konvensional dialirkan arus searah sekitar 100 volt tetapi dalam elektroforesi kapiler dialirkan arus searah bertegangan sangat tinggi 10.000-30.000 volt. Oleh karena itu, eksperimen elektroforesi kapiler dapat dilakukan dalam beberapa menit sedangkan eksperimen elektroforesi konvensional dilakukan dalam waktu sehari.

4. Detector

Detector dapat diletakkan disalah satu ujung pipa kapiler yaitu dekat katoda. Berbagai detector telah digunakan untuk mendeteksi komponen-komponen hasil pemisahan, antara lain : spektrometri (seperti UV dan fluoresen) dan detector elektrokimia (seperti konduktometri dan amperometri).

Contoh Aplikasi Elektroforesis :

1. Pemisahan ion Li^+ dan Na^+

- a. Kedua kation ini, Li^+ dan Na^+ sama-sama memiliki muatan +1, namun memiliki ukuran berbeda. Ion Li^+ memiliki ukuran yang lebih kecil dari Na^+ . Ion Li^+ akan lebih tersolvasi dengan air sehingga akan mengikat banyak molekul air. Akibatnya mobilitas Li^+ akan menjadi kecil dan ion Na^+ akan lebih dahulu keluar dari kapiler.

2. Pemisahan NO_2^- dan NO_3^- menggunakan EOF (Electro Osmotic Flow)

- a. HNO_3 merupakan asam kuat, dalam air akan terurai sempurna menjadi H^+ dan NO_3^- , sedangkan HNO_2 merupakan asam lemah, dalam air akan terdisosiasi sebagian. Pada pH 7, HNO_2 akan terdisosiasi sebagian, menyisakan spesi HNO_2 . Hal ini tidak baik untuk pemisahan karena tidak semua HNO_2 berada dalam spesi NO_2^- . Untuk melakukan pemisahan dengan baik, kita harus menggunakan pH yang tinggi sehingga kedua spesi tersebut dapat berada dalam bentuk anionnya. Namun ketika pH sudah diatur tinggi, hanya akan terbentuk satu puncak pada elektroforegram. Hal ini disebabkan karena kedua spesi akan menuju pada kutub yang sama. Pemisahan dapat tetap dilakukan dengan baik asalkan muatan detektor diatur menjadi positif dan muatan injektor diatur menjadi negatif.

Sistem yang berdasarkan pada skema (a) hanya akan menghasilkan satu puncak, artinya pemisahan tidak berlangsung dengan baik. Pada skema (b) akan muncul dua puncak, artinya pemisahan NO_3^- dan NO_2^- terjadi dengan baik. Hal ini disebabkan karena nilai mobilitas elektroforetik (μ_{ep}) NO_3^- lebih kecil dibanding μ_{ep} NO_2^- , akibatnya mobilitas total (μ_t) NO_2^- menjadi lebih besar dari μ_t NO_3^- . Hal ini akan berakibat NO_2^- akan keluar terlebih dahulu dibanding NO_3^- .

Untuk meneliti DNA dalam berbagai bidang, misalnya :

- a. Di bidang kepolisian teknik ini digunakan untuk pemeriksaan DNA, setiap orang memiliki karakteristik khusus, misalnya sidik jari. Sehingga membantu polisi dalam mengungkap sebuah kasus.
- b. Dalam kegiatan biologi molekuler, elektroforesis merupakan salah satu cara untuk memvisualisasikan keberadaan DNA, plasmid, dan produk PCR.
- c. Memudahkan identifikasi protein yang terdapat pada sebuah DNA. **Medium**

Pendukung

Elektroforesis untuk makromolekuler memerlukan medium pendukung untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik yang digunakan. Gel poliakrilamid dan agarosa merupakan medium pendukung yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Efek penguapan juga dapat diturunkan minimal jika elektroforesis dilakukan di medium pendukung yang dicelupkan dengan larutan buffer. Pemisahan sempurna suatu cairan dapat terjadi efektif dalam zona tertentu. Meskipun medium pendukung relative stabil (inert), komposisinya mungkin akan menyebabkan penyerapan, migrasi electron (elektro osmosis), atau penyaringan berdasarkan ukuran molekulnya yang kesemuanya mempengaruhi kecepatan gerak senyawa.

Cellulose asetat

Larutan Buffer

Larutan buffer (penyangga) ini menstabilkan pH medium pendukung. Buffer juga dapat mempengaruhi kecepatan gerak senyawa karena beberapa hal, yaitu :

1. Komposisi

- a. Buffer harus tidak mengikat senyawa yang dipisahkan karena akan mempengaruhi kecepatan gerak. Buffer borat dipakai untuk memisahkan karbohidrat karena dapat membentuk gabungan yang bermuatan listrik dengan karbohidrat.

2. Konsentrasi

- b. Dengan naiknya kekuatan ion buffer, jumlah arus listrik yang terbawa akan meningkat dan bagian aliran yang dibawa sampel menurun, sehingga memperlambat gerakannya. Kekuatan ion tinggi dalam buffer akan meningkatkan arus keseluruhan sehingga panas juga meningkat, biasanya dipilih konsentrasi sebesar 0,05 – 0,10 M.

3. pH

- c. Tingkat ionisasi asam-asam organik akan bertambah apabila pH bertambah sebaliknya untuk basa-basa organik. Oleh sebab itu, tingkat kecepatan gerakannya juga terpengaruh oleh pH.

IMedan Elektrik

Apabila voltase diberikan diantara dua elektroda, arus ditentukan oleh tahanan dalam medium :

1. Voltase

Apabila jarak antara dua elektroda adalah 1 meter dan perbedaan potensial antara keduanya adalah V volt sehingga gradient potensialnya adalah V/1m. Kenaikan gradient potensial akan menyebabkan kecepatan gerak ion.

2. Aliran listrik

Arus aliran listrik dalam larutan antara dua elektroda disebabkan umumnya oleh ion buffer dan sedikit oleh ion dalam sampel. Kenaikan voltase akan meningkatkan jumlah muatan yang dipindahkan setiap detik kearah elektroda. Jarak yang ditempuh ion akan sebanding dengan waktunya.

3. Tahanan

Medium elektroforesa menimbulkan aliran ion sebandin dengan jenis medium, jenis buffer, dan konsentrasinya. Tahanan akan meningkat dengan bertambahnya jarak antara elektroda, namun berkurang dengan bertambahnya luas permukaan elektroda dan konsentrasi ion dalam buffer.

Referensi:

Durney, Brandon C., et al. 2015. "Elektroforesis kapiler diterapkan pada DNA: menentukan dan memanfaatkan urutan dan struktur untuk memajukan bioanalisis (2009-2014)." Kimia Analitik dan Bioanalitik, Springer Berlin Heidelberg,

2. "Elektroforesis." University of Leicester, 8 Jan 2009, Tersedia di sini. Diakses pada 28 Agustus 2017. 3. "Elektroforesis gel." Khan Academy, Tersedia di sini. Diakses 28 Agustus 2017.

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing
BioTechniques 43:Sii-Sv



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 10

Topik :

Tantangan teknis analisis DNA Forensik

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

Universitas
Esa Unggul
UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Tantangan teknis analisis DNA Forensik

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan pengertian teknis analisis DNA forensik
2. Menganalisis proses dalam tantangan teknis analisis DNA Forensik

B. Uraian

1. Pendahuluan

Forensik merupakan aplikasi dari disiplin ilmu kedokteran maupun ilmu-ilmu lain yang terkait dalam suatu penyelidikan untuk memperoleh data-data dalam mengungkap kasus kriminal baik itu data post mortem berdasar pemeriksaan mayat maupun data dari pemeriksaan kasus hidup seperti perkosaan, pelecehan seksual dan/ atau kekerasan dalam rumah tangga. Ilmu forensik merupakan terapan berbagai ranah keilmuan (multi disiplin) yang penting untuk menentukan identitas korban maupun pelaku, tanda, sebab dan cara kematian, serta perkiraan waktu kematian.

Produk yang dihasilkan merupakan bukti autentik dalam suatu proses peradilan hukum demi menegakkan kebenaran. Produk tersebut dapat berupa laporan tertulis atau dalam bentuk pengakuan lisan para ahli yang akan diberikan di pengadilan pada tindak kriminal. Kasus non kriminal, aplikasi forensik sangat diperlukan terutama untuk mengungkap identitas korban musibah masal seperti bencana alam, jatuhnya pesawat, tenggelamnya kapal, kecelakaan kereta dan kebakaran.



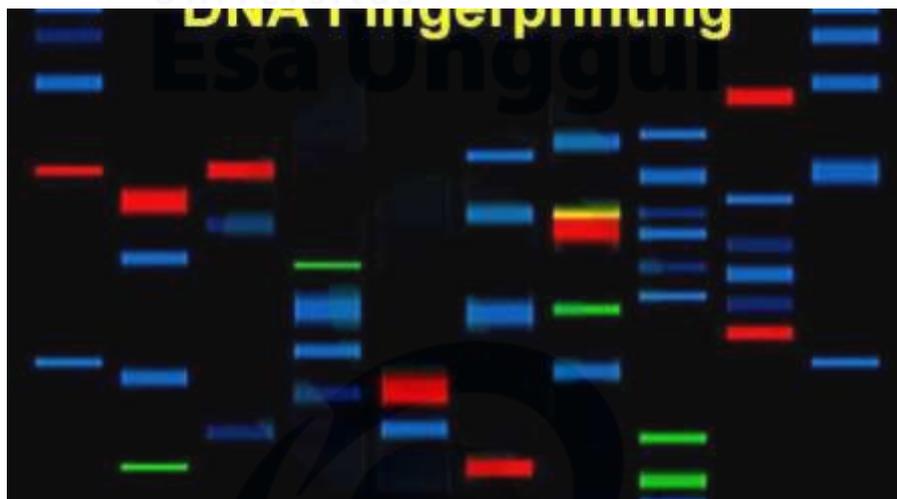
Gambar 1. Identifikasi korban kecelakaan

Seringkali kita mendengar kabar temuan mayat tanpa identitas dan hanya berselang kurang dari sebulan bahkan kurang dari seminggu pihak kepolisian sudah mampu mengungkap identitasnya yang akan mengarahkan penyelidikan pada sebab, waktu, serta perkiraan cara kematian. Paling penting dapat digunakan sebagai petunjuk untuk mencari pelakunya jika itu merupakan suatu tindak kriminal.

Semakin pesatnya perkembangan teknologi memungkinkan polisi mampu memecahkan suatu kasus lebih cepat, ini dikarenakan penerapan teknologi DNA atau deoxyribonucleic acid merupakan asam nukleat yang menyusun informasi genetik pada makhluk hidup. DNA terdapat sebagai rantai ganda (double helix) yang sangat panjang, mengandung potongan-potongan gen sebagai satuan terkecil pengendali sifat dan ciri morfologi seperti warna kulit, jenis rambut, bentuk jari dan sifat-sifat khusus pada manusia.

2. DNA dalam Barang Bukti Forensik

Tes sidik DNA dalam kasus forensik utamanya dilakukan untuk tujuan identifikasi korban walaupun sekarang tes sidik DNA juga bisa dilakukan untuk melacak pelaku kejahatan. Pelacakan identitas forensik akan dilakukan dengan mencocokkan antara DNA korban dengan terduga keluarga korban. Hampir semua sampel biologis tubuh dapat digunakan untuk sampel tes sidik DNA, tetapi yang sering digunakan adalah darah, rambut, usapan mulut pada pipi bagian dalam (buccal swab), dan kuku. Untuk kasus-kasus forensik, sperma, daging, tulang, kulit, air liur atau sampel biologis apa saja yang ditemukan di tempat kejadian perkara (TKP) dapat dijadikan sampel tes sidik DNA.



Gambar 2. DNA Finger printing

Seorang penjahat tanpa disadari pasti akan meninggalkan sesuatu (jejak), sehingga ketika polisi dipanggil ke tempat kejadian serius, tempat kejadian perkara (TKP) segera ditutup dengan pita kuning police line untuk mencegah pencemaran bukti- bukti penting. Ahli forensik harus bergegas ke tempat kejadian sebelum bukti penting yang mungkin membantu mengungkap kejadian hilang/dirusak. Barang bukti forensik yang ditemukan harus diambil sampelnya untuk diperiksa di laboratorium demi mendapatkan data pelengkap dan pendukung. Salah satu pemeriksaan yang penting dan hasilnya bisa didapat dengan cepat adalah tes sidik DNA.



Gambar 3. Pengambilan sampel dari TKP

3. Identifikasi Forensik dengan Tes Sidik DNA

Pemeriksaan identifikasi forensik merupakan pemeriksaan yang pertama kali dilakukan, terutama pada kasus tindak kejahatan yang korbannya tidak dikenal walaupun identifikasi juga bisa dilakukan pada kasus non kriminal seperti kecelakaan, korban bencana alam dan perang, serta kasus paternitas (menentukan orang tua). Secara biologis, pemeriksaan identifikasi korban bisa dilakukan dengan odontologi (gigi-geligi), anthropologi (ciri tubuh), golongan darah serta sidik DNA. Sidik DNA merupakan gambaran pola potongan DNA dari setiap individu. Seperti halnya sidik jari (fingerprint) yang telah lama digunakan oleh detektif dan laboratorium kepolisian sejak tahun 1930.

Pada tahun 1980, Alec Jeffreys dengan teknologi DNA berhasil mendemonstrasikan bahwa DNA memiliki bagian-bagian pengulangan (sekuen) yang bervariasi. Hal ini dinamakan polimorfisme, yang dapat digunakan sebagai sarana identifikasi spesifik (individual) dari seseorang. Perbedaan sidik DNA setiap orang atau individu layaknya sidik jari, sidik DNA ini juga bisa dibaca. Tidak seperti sidik jari pada ujung jari seseorang yang dapat diubah dengan operasi, sidik DNA tidak dapat dirubah oleh siapapun dan dengan alat apapun. Bahkan, sidik DNA mempunyai kesamaan pada setiap

sel, jaringan dan organ pada setiap individu. Oleh karena itu sidik DNA menjadi suatu metode identifikasi yang sangat akurat.

Hanya sekitar 3 juta basa DNA yang berbeda antara satu orang dengan orang lain. Para ahli menggunakan daerah yang berbeda ini untuk menghasilkan profil DNA dari seseorang individu, menggunakan sampel dari darah, tulang, rambut atau jaringan tubuh yang lain. Pada kasus kriminal, biasanya melibatkan sampel dari barang bukti dan tersangka, mengekstrak DNANYa, dan menganalisisnya untuk melihat suatu daerah khusus pada DNA (marker). Para ilmuwan telah menemukan marker di dalam sampel DNA dengan mendesain sepotong kecil DNA (probe) yang masing-masing akan mencari dan berikatan dengan sekuen DNA pasangan/komplementernya pada sampel DNA. Satu seri probe akan berikatan dengan DNA sampel dan menghasilkan pola yang berbeda antara satu individu dengan individu yang lain.

Para ahli forensik membandingkan profil DNA ini untuk menentukan apakah sampel dari tersangka cocok dengan sampel pada bukti. Marker sendiri biasanya tidak bersifat khusus untuk setiap individu, jika dua sampel DNA mirip pada empat atau lima daerah, sampel tersebut mungkin berasal dari individu yang sama. Jika profil sampel tidak sama, berarti seseorang tersebut bukan pemilik DNA yang ditemukan pada lokasi kriminalitas. Jika pola yang ditemukan sama, tersangka tersebut kemungkinan memiliki DNA pada sampel bukti. DNA yang biasa digunakan dalam tes adalah DNA mitokondria dan DNA inti sel. DNA yang paling akurat untuk tes adalah DNA inti sel karena inti sel tidak bisa berubah sedangkan DNA dalam mitokondria dapat berubah karena berasal dari garis keturunan ibu, yang dapat berubah seiring dengan perkawinan keturunannya.



Gambar 4. Hasil Sidik Jari untuk uji Forensik

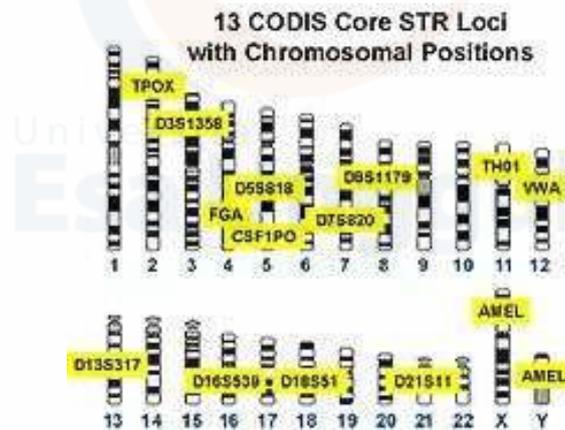
Kasus-kasus kriminal, penggunaan kedua tes DNA di atas, bergantung pada barang bukti apa yang ditemukan di Tempat Kejadian Perkara (TKP). Seperti jika ditemukan puntung rokok, maka yang diperiksa adalah DNA inti sel yang terdapat dalam epitel bibir karena ketika rokok dihisap dalam mulut, epitel dalam bibir ada yang tertinggal di puntung rokok. Epitel ini masih mengandung unsur DNA yang dapat dilacak. Misalnya dalam kasus korban ledakan bom, serpihan tubuh para korban yang sulit dikenali diambil sekuens genetiknya. Bentuk sidik DNA berupa garis-garis yang mirip seperti bar-code di kemasan makanan atau minuman.

Membandingkan kode garis-garis DNA, antara 30 sampai 100 sekuens rantai kode genetika, dengan DNA anggota keluarga terdekatnya, biasanya ayah atau saudara kandungnya, maka identifikasi korban forensik atau kecelakaan yang hancur masih dapat dilacak. Untuk kasus pemerkosaan diperiksa spermanya tetapi yang lebih utama adalah kepala spermatozoanya yang terdapat DNA inti sel di dalamnya. Jika di TKP ditemukan satu helai rambut maka sampel ini dapat diperiksa asal ada akarnya. Namun untuk DNA mitokondria tidak harus ada akar, cukup potongan rambut karena diketahui bahwa pada ujung rambut terdapat DNA mitokondria sedangkan akar rambut terdapat DNA inti sel.

Teknologi DNA memiliki keunggulan mencolok dalam hal potensi diskriminasinya dan sensitifitasnya maka tes sidik DNA menjadi pilihan dalam penyelidikan kasus-kasus forensik dibanding teknologi konvensional seperti serologi dan elektroforesis. Kedua tes ini hanya mampu menganalisis perbedaan ekspresi protein dan membutuhkan sampel dengan jumlah relatif besar. Tes sidik DNA sebaliknya hanya membutuhkan sampel yang relatif sedikit. Metode Southern Blots misalnya sudah mampu mendeteksi loki polimorfisme dengan materi DNA sekecil 60 nanogram, sedangkan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) hanya memerlukan DNA sejumlah beberapa nanogram saja. Pada kasus kriminal dengan jumlah sampel barang bukti yang diambil di TKP sangat kecil dan kemungkinan mengalami degradasi maka metode yang cocok dan sensitif adalah PCR.

Dalam mengungkap tersangka dalam kasus pemerkosaan, bisa dilakukan dengan cara mengidentifikasi DNA yang terdapat pada bercak sperma yang ditemukan. Dalam pelaksanaannya diperlukan primer seperti (Short tandem repeat combined DNA index) STR-CODIS untuk mengamplifikasi DNA yang sangat sedikit. STR adalah bagian DNA yang pendek dan bersifat polimorfik yang paling informatif berdasarkan PCR untuk mencoba untuk mengindividualisasi bahan biologis. STR-CODIS sering di pakai pada kasus untuk identifikasi pada manusia di karenakan sudah di sepakati oleh lembaga

forensik dunia dan FBI sebagai cara yang mudah untuk mencocokkan sampel yang ada di TKP dengan sampel terduga korban atau tersangka.



Gambar 5. CODIS yang diakui secara International untuk forensic

4. Hambatan dalam isolasi DNA

Tantangan dalam Teknik ekstraksi DNA sangat dipengaruhi oleh Teknik pengambilan DNA, penyimpanan DNA serta kondisi sampel. Proses yang cukup sulit dalam pengujian DNA adalah isolasi. Tempat yang lembap dan banyak jamur menyulitkan dalam isolasi DNA, sebab DNA lain bisa mengintervensi. Misalnya untuk mengidentifikasi jenazah seseorang di kuburan massal akan menemui kesulitan karena telah bercampur dengan jenazah lainnya. Maka itu, sumber DNA yang digunakan adalah tulang.



Gambar 6. Pengumpulan tulang untuk isolasi DNA

Selain tulang, para penyidik juga dapat mengisolasi DNA dari darah dan sumber lainnya. Penyidik ataupun peneliti mengambil sumber DNA, misalnya dari darah. Kemudian darah merah dan darah putih dipecah membrannya. DNA tersebut akan diperbanyak hingga jutaan kali. Proses pengkopian ini menggunakan prinsip alamiah, sebagaimana DNA di dalam tubuh manusia yang juga diperbanyak. Bahan untuk memperbanyak DNA harus sama dengan yang digunakan di tubuh.

Semakin banyak sampel yang diambil maka DNA yang diperoleh akan semakin banyak. Namun, DNA untuk forensik tidak perlu banyak-banyak. Setitik darah saja sudah bisa dijadikan bahan untuk mengidentifikasi. Jika jenazahnya masih baru biasanya mudah identifikasi DNA. Pada pembunuhan yang sudah lama, sudah membusuk, biasanya agak sulit dan hal tersebut tergantung di mana jenazah ditemukan.

Setiap bagian tubuh manusia dapat diambil sebagai spesimen karena setiap sel yang berinti dalam tubuh seseorang memiliki rangkaian DNA identik, dimana seorang anak pada dasarnya menerima jumlah material genetika yang sama dari ibu dan ayah kandungnya (hukum pewarisan sifat dari Mendel). Selama ini spesimen (sampel) yang banyak dipakai dalam pemeriksaan DNA untuk mengidentifikasi adalah bercak darah/darah, bercak sperma, vaginal swab, buccal swab, dan tulang.



Gambar 7. Alat swab untuk sampel darah atau cairan lainnya

Dalam kedokteran forensik, salah satu pemeriksaan yang sangat membantu penyidikan adalah pemeriksaan barang bukti yang ada di tubuh korban, pelaku kejahatan dan tempat kejadian perkara (TKP). Pelaku tindak kejahatan sering menghilangkan atau mengaburkan barang bukti pelaku atau korban, misalnya dengan pencucian. Pada pencucian biasanya pelaku terfokus pada bercak darah sehingga hanya bercak darah saja yang dicuci, dipotong atau dibakar. Namun demikian pada pakaian selain terdapat bercak darah juga masih ada bercak keringat yang melekat terutama pada daerah tertentu misal di kerah leher pakaian, lengan ataupun bagian ketiak pakaian. Pada kasus jerat atau gantung diri, pada umumnya didapatkan adanya kencing atau cairan mani yang keluar dari alat kelamin serta kotoran dari anus yang merupakan akibat proses mati lemas (asfiksia). Urine yang menempel pada celana atau kain sekitarnya atau dengan kata lain bercak urine tersebut seringkali diabaikan dalam pemeriksaan.



Gambar 8. Identifikasi DNA dari peralatan yang digunakan penumpang Lion Air

DNA dapat diperoleh dari inti sel yang disebut DNA kromosomal dan dari mitokondria yang disebut mt- DNA, yang dapat diekstrak dari setiap bagian biologis makhluk hidup termasuk manusia. Pada manusia bagian biologis sebagai sumber DNA dapat berupa darah, epitel mukos mulut, folikel rambut, urine, sperma, dan lain-lain. Sperma merupakan bagian biologis yang sering digunakan sebagai bukti untuk menyelesaikan kasus pemerkosaan, terutama dalam identifikasi pelaku.

Pada uji DNA Forensik digunakan metode PCR, keberhasilan metode ini sangat tergantung pada isolasi sejumlah DNA tanpa terdegradasi. Pada persidangan kasus kriminal, hal ini bisa menjadi suatu masalah jika jumlah DNA sangat sedikit dan kualitasnya rendah. Sampel dari cairan ejakulat berupa bercak sperma yang terdapat pada baju/kain di TKP ataupun cairan/swab vagina dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor luar yang dapat menurunkan kualitas DNA nya. Contoh faktornya seperti suhu, kelembapan, cahaya, media seperti sperma yang terdapat pada kain, rendaman air tawar. Kain katun mempunyai sifat tidak kuat terhadap asam berat dan apabila di rendam pada air yang memiliki kadar asam tinggi akan merusak komponen dari kain itu sendiri.



Gambar 9. Pengambilan sampel kain untuk identifikasi pelaku kejahatan

Dalam bidang forensik dikenal istilah jenazah terlantar. Arti istilah jenazah terlantar itu sendiri adalah jenazah seseorang tanpa keluarga atau ahli waris yang tidak teridentifikasi keluarganya setelah 2 x 24 jam. Pengawetan jenazah bertujuan untuk mencegah pembusukan. Mekanisme pembusukan disebabkan karena autolisis yakni tubuh mempunyai enzim yang setelah mati dapat merusak tubuh sendiri. Selain itu pengawetan diperlukan untuk menghambat aktivitas kuman.

Salah satu metode pengawetan jenazah yaitu dengan injeksi formalin yang disebut dengan metode konvensional yang mempunyai kelebihan yaitu jenazah dapat digunakan dalam jangka panjang dibanding dengan metode noninvasif, yaitu menggunakan spray gel yang dimasukkan ke mulut, hidung, dan pantat jenazah. Ada juga bentuk bubuk dengan melumuri jenazah. Keuntungan metode ini tidak merusak jenazah. Baunya harum karena menggunakan aroma terapi. Jenazah tidak kaku dan lembek. Kelemahannya hanya bisa

digunakan kurang dari lima hari sedangkan formalin dapat digunakan dalam jangka lebih lama. Jenasah disuntik formalin 10% dan disimpan paling sedikit 6 bulan sebelum dilakukan otopsi anatomis. Dalam tenggang waktu tersebut apabila ada keluarga terdekat yang mencari, maka jenasah diberikan kepada keluarganya untuk dimakamkan. Hal serupa pengawetan juga dilakukan jika oleh suatu alasan tertentu, keluarga ingin menyimpan jenasah lebih dari 24 jam sebelum dikubur atau dikremasi, maka demi keamanan lingkungan terhadap jenasah selayaknya dilakukan pengawetan yang dapat langsung dilakukan setelah pemeriksaan luar jenasah.



Gambar 10. Jenasah Terlantar

Persoalan warisan, paternitas dan aksi kriminal dapat terjadi pada jenasah yang terformalin tersebut. Untuk menyelesaikan kasus-kasus tersebut, maka perlu ditempuh analisis Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR), sebab hanya dengan metode ini DNA yang terdegradasi masih dapat dianalisis. Pengambilan sampel jaringan lunak relatif lebih mudah dilakukan dan tidak banyak melukai jenasah, meskipun sampel yang lain juga dapat diambil, akan tetapi menurut adat dan pranata sosial di Indonesia yang menganjurkan untuk tidak melukai jenasah atau jika terpaksa, diharapkan sedikit mungkin melukai jenasah, sehingga sampel awal yang dipergunakan adalah dari jaringan lunaknya.

Sampel yang sudah terpapar formalin, mempunyai kendala ketidakberhasilan dalam analisis DNAny. Hal ini disebabkan karena pH larutan formalin yang semakin turun seiring waktu karena terbentuknya asam formiat, menyebabkan bertambahnya AP Site yang berakhir dengan fragmentasi DNA. Pada kondisi normal (kondisi fisiologis) ikatan yang

paling labil pada struktur DNA adalah ikatan N-glikosil yang mengikat basa. Hidrolisis pada ikatan tersebut mengakibatkan hilangnya basa yang meninggalkan lokasi apuridik atau apirimididik (AP Site), lokasi tersebut sering berlanjut dengan 'retakan' pada struktur DNA.

Hasil penelitian tentang kondisi DNA pada jaringan lunak menunjukkan analisis DNA jaringan lunak manusia yang terpapar larutan formalin 2% sampai dengan 35% selama 3 hari, didapatkan visualisasi hasil PCR lokus CSF1PO dan miniprimer lokus D3S818 tidak memperlihatkan pita DNA. Sedangkan miniprimer lokus D13S317 dan D21S11 masih dapat memperlihatkan pita DNA, sehingga dapat membantu keberhasilan proses penentuan identifikasi seseorang dalam pemeriksaan DNA paternitas maupun dalam pemeriksaan DNA forensik lainnya.



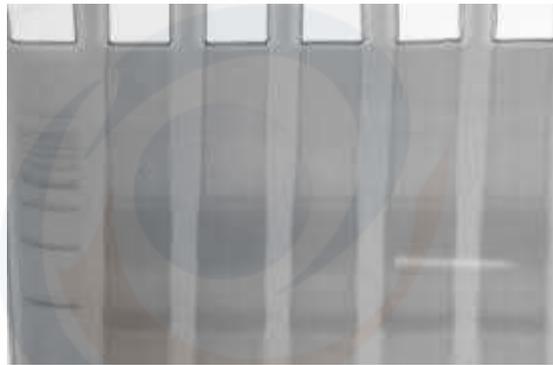
Gambar 11. Senyawa formalin untuk mengawetkan mayat, namun dapat merusak pita DNA yang menyulitkan analisis DNA

Sampai saat ini belum ada penelitian yang mengungkapkan analisis DNA dari sampel jenazah terlantar yang terpapar formalin sampai dengan 6 bulan, sesuai dengan prosedur yang ada di laboratorium anatomi yang menyimpan jenazah terlantar dari pihak rumah sakit, jika dalam jangka waktu 6 bulan ada pihak keluarga yang datang, maka jenazah dapat diserahkan. Penelitian tentang analisis DNA dari sampel jaringan lunak manusia yang sudah terformalin beberapa waktu, masih sangat relevan dilakukan.

Pola polimorfisme DNA inti yang lazim digunakan untuk identifikasi ialah Short Tandem Repeat (STR) dan dengan menggunakan tiga belas lokus STR identitas individu secara umum dapat ditentukan. Ukuran fragmen STR biasanya tidak lebih dari 500 bp, oleh

karena itu STR dapat diamplifikasi dengan menggunakan jumlah DNA template yang relatif sedikit (~1ng) dan juga dapat digunakan untuk menganalisa sampel DNA yang sudah terdegradasi.

. Hasil analisis menunjukkan semakin lama waktu paparan formalin yang diberikan pada sampel jaringan lunak manusia, maka terdapat kecenderungan kadar DNA yang semakin menurun tetapi masih berada pada nilai ambang minimal kadar DNA yang dibutuhkan pada pemeriksaan Short Tandem Repeat (STR). Hasil Pengukuran Kadar dan Kemurnian DNA menjadi persyaratan dalam pemeriksaan Polimerase Chain Reaction (PCR) dimana kemurnian DNA 1-2 (ideal 1,8-2) memungkinkan dilakukan amplifikasi. Rerata kadar yang didapat pada jaringan lunak manusia yang tidak terpapar formalin sebesar 992.250 g/ml. Menurun drastis setelah paparan formalin selama 1 bulan yang menunjukkan rerata kadar sebesar 109.099 g/ml.



Gambar 12. Pita DNA dari jaringan lunak terpapar formalin menunjukkan hasil yang samar

Semakin lama waktu paparan formalin yang diberikan pada sampel jaringan lunak manusia, maka terdapat kecenderungan kadar DNA yang semakin menurun. Kadar DNA merupakan faktor penting dalam pemeriksaan DNA forensik yakni berpengaruh terhadap keberhasilan STR-PCR pada sampel-sampel DNA. Penurunan kadar DNA hingga 1 ng berpotensi terhadap penurunan kemampuan deteksi STR hingga 95%.

Jumlah kadar DNA yang dibutuhkan dalam analisis DNA forensik berbeda-beda tergantung dari kebutuhan dan jenis pemeriksaan. Pada pemeriksaan Short Tandem Repeat (STR) hanya membutuhkan konsentrasi DNA minimal antara 1-25 ng. Selain tergantung dari kadar DNA dari bahan pemeriksaan juga dibutuhkan kualitas DNA yang mencukupi yaitu DNA yang digunakan harus dalam kondisi terdegradasi seminimal

ungkinan. Apabila DNA dalam kondisi terdegradasi parah, maka dapat mengakibatkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan.

Degradasi DNA pada jenazah dapat disebabkan oleh 2 faktor, yaitu endogenous dan exogenous. Faktor endogenous berasal pada sel sendiri (kerusakan spontan), faktor exogenous berasal dari lingkungan. Perusakan postmortem pada tubuh manusia adalah proses yang sangat kompleks, dimulai dengan autolysis dan pembusukan serta diikuti oleh penguraian aerobik dan bakterial (pembusukan) dari bahan organik. Faktor lingkungan seperti halnya kelembaban serta temperatur lingkungan sangatlah berpengaruh terhadap kondisi DNA yang digunakan sebagai bahan identifikasi DNA di bidang forensik, sebagaimana pada pemeriksaan DNA dibidang lainnya.

Penggunaan formalin pada jaringan lunak manusia interval selama 1 bulan sampai 6 bulan dapat berdampak terjadinya penurunan kadar DNA pada jaringan lunak manusia tersebut. Hal ini disebabkan oleh karena pH larutan formalin yang semakin turun seiring waktu karena terbentuknya asam formiat, menyebabkan bertambahnya AP Site yang berakhir dengan fragmentasi DNA. Pada kondisi normal (kondisi fisiologis) ikatan yang paling labil pada struktur DNA adalah ikatan N-glikosil yang mengikat basa. Hidrolisis pada ikatan tersebut mengakibatkan hilangnya basa yang meninggalkan lokasi apuridik atau apirimidinik (AP Site), lokasi tersebut sering berlanjut dengan retakan pada struktur DNA.

Referensi:

Durney, Brandon C., et al. 2015. "Elektroforesis kapiler diterapkan pada DNA: menentukan dan memanfaatkan urutan dan struktur untuk memajukan bioanalisis (2009-2014)." Kimia Analitik dan Bioanalitik, Springer Berlin Heidelberg,

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. [Plant genetics for forensic applications](#). *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing *BioTechniques* 43:Sii-Sv

Jurnal Biosains Pascasarjana Vol. 19 (2017) pp © (2017) Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga, Indonesia PENGARUH RENDAMAN AIR TERHADAP KUALITAS DNA PADA SPERMA DENGAN STR-CODIS D13S317 DAN D21S1 Abdul Hadi Furqoni *1 , Ahmad Yudianto2 , Puspa Wardhani 3



MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK

(IBK 582)

Pertemuan ke 10

Topik :

Standard kualitas dan validasi uji DNA Forensik

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Standard kualitas dan validasi uji DNA Forensik

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Standard kualitas dan validasi uji DNA Forensik
2. Menganalisis proses dalam Standard kualitas dan validasi uji DNA Forensik

B. Uraian

1. Pendahuluan

Di dalam laboratorium forensik, pengungkapan suatu kasus tindak kriminal dapat dilakukan melalui identifikasi DNA. Dalam kasus forensik sering ditemukan sampel DNA dari terduga tersangka atau korban kecelakaan pada lokasi kejadian, dan hal tersebut memerlukan pembuktian untuk mengetahui apakah DNA terduga atau tersangka memiliki kemiripan pola polimorfisme dengan sampel DNA yang ditemukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan amplifikasi DNA pada situs polimorfisme untuk melihat kecocokan dengan sampel DNA yang ditemukan. Sekuens nukleotida dari amplifikasi DNA dapat menentukan kecocokan dua sampel DNA. Pada uji DNA Forensik diperlukan adanya proses validasi uji DNA forensik yang menunjukkan spesifikasi dan sensitivitas hasil uji. Sehingga hasil uji mendekati kebenaran 100 % dapat dipertanggungjawabkan kebenarannya.



Gambar 1. Pengumpulan korban kecelakaan Lion Air

Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus dipenuhi. Validasi harus sesuai dengan kebutuhan penerapan yang ditetapkan atau bidang penerapan. Laboratorium harus merekam hasil yang diperoleh, prosedur yang digunakan untuk validasi, dan pernyataan bahwa metode tersebut tepat untuk penggunaan yang dimaksud. Validasi dilakukan untuk melihat pengaruh dari kondisi peralatan-peralatan yang digunakan, pereaksi dan personil yang melakukan pemeriksaan. Metode yang telah tervalidasi dengan baik dapat memberikan hasil yang valid.

Prosedur standar kualitas dan validasi uji DNA Forensik meliputi tata cara validasi metode uji yaitu:

- a. Metoda Isolasi DNA yang terstandar
- b. Uji Kualitatif dan Kuantitatif DNA
- c. Uji Polimorfisme berdasarkan PCR-RAPD atau PCR-ISSR
- d. Uji Similaritas untuk hubungan kekerabatan

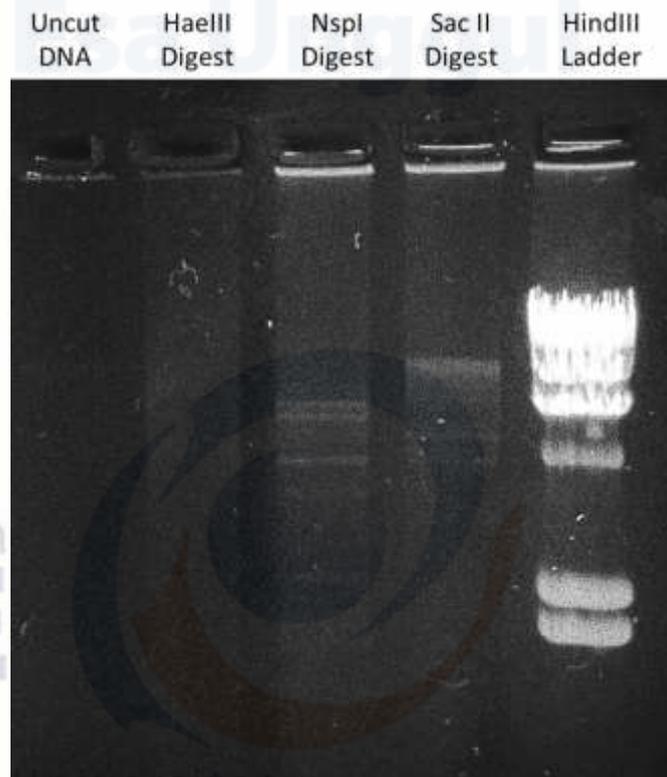
2. Uji Isolasi DNA

Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan bagian dari sel yang dapat dipakai sebagai alat identifikasi suatu organisme termasuk manusia. Penggunaan DNA sebagai alat identifikasi dikarenakan keidentikannya pada setiap sel pada satu organisme atau dapat ditelusuri kesamaannya pada beberapa generasi yang mempunyai hubungan kekerabatan. Karena keidentikan dari DNA pada setiap sel pada satu organisme, maka bagian sel manapun dari tubuh dapat dipakai sebagai sampel. Sebagai alat identifikasi, DNA tidak dapat berubah sepanjang hidup seseorang seperti halnya alat identifikasi konvensional (sidik jari) yang dapat berubah karena luka atau operasi. Bagian DNA yang dilacak adalah daerah yang kaya dengan pengulangan nukleotida-nukleotida tertentu yang dikenal dengan DNA fingerprint.



Gambar 2. Hasil Finger print DNA pelaku kejahatan dan para terduga

dengan panjang tertentu. Adanya sebuah pita DNA lain yang berada di bawah pita yang dituju diyakini sebagai dimer. Dimer merupakan keadaan yang menunjukkan bahwa pada proses amplifikasi membentuk ikatan sehingga dihasilkan DNA dengan pita yang pendek setelah elektroforesis. Hal ini juga menandakan kurangnya konsentrasi DNA cetakan pada reaksi PCR.



Gambar 4. Pita DNA Smeer

3. Uji Kuantitas dan Kualitas DNA

Uji kuantitatif DNA dengan *spektrofotometri UV-Vis*, DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet karena keberadaan basa-basa purin dan pirimidin. Pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada λ 260 nm, sedang kontaminan protein atau phenol akan menyerap cahaya pada λ 280 nm.

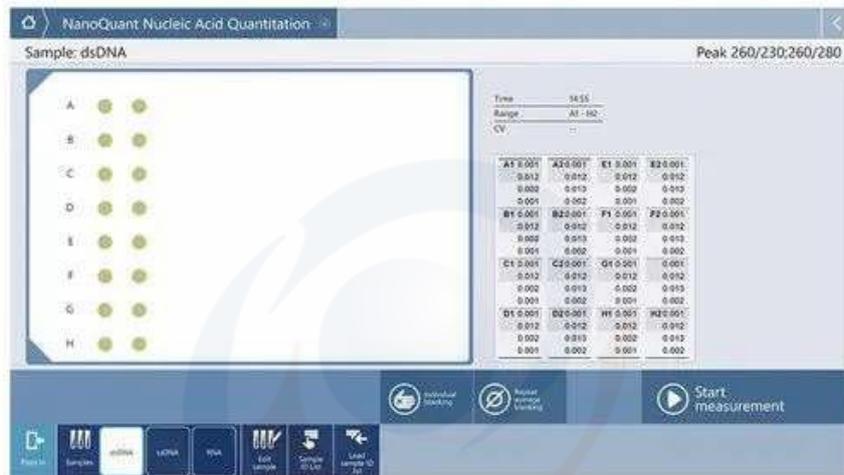
Sehingga kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi λ 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi λ 280 ($\text{Å}260/\text{Å}280$), dan *nilai kemurnian DNA berkisar antara 1.8-2.0*. Serta untuk mengukur konsentrasi DNA digunakan rumus sebagai berikut:

$$[\text{DNA}] = \text{Å}260 \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$$

A_{260} = Nilai absorbansi pada λ 260 nm

50 = larutan dengan nilai absorbansi 1.0 sebanding dengan 50 ug untai ganda DNA per ml (dsDNA)

Metoda standar yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi dan memurnikan fragmen DNA adalah elektroforesis gel agorose. Teknik ini sederhana, cepat terbentuk, dan mampu memisahkan campuran potongan DNA sesuai dengan ukurannya secara akurat, dibanding dengan densitas gradient sentrifugasi. Selanjutnya, lokasi DNA dalam gel tersebut dapat diidentifikasi secara langsung dengan menggunakan pewarna berfluorescen.



Gambar 5. Uji kuantifikasi DNA

4. Uji polimorfisme

Amplifikasi adalah suatu penerapan bioteknologi untuk memperbanyak DNA pada kromosom. DNA dapat diperbanyak hingga ratusan bahkan ribuan kali. Amplifikasi dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya dengan metode PCR (Polymerase Chain Reaction) yang ditemukan Karry Mullis pada tahun 1983. Amplifikasi dengan metode PCR membutuhkan primer. Primer adalah sekuen oligonukleotida (umumnya 10-20 nukleotida) khusus yang akan berikatan dengan DNA pada daerah yang spesifik.

Keberhasilan amplifikasi dengan metode PCR dipengaruhi oleh kesesuaian primer dengan bahan ekstraksi dan optimalisasi PCR. Apabila primer tidak sesuai dengan bahan ekstraksi akan menyebabkan daerah lain (bukan daerah sasaran) yang teramplifikasi atau

bahkan tidak ada daerah yang diamplifikasi. Optimalisasi ini menyangkut suhu denaturasi dan penempelan (annealing) DNA dalam mesin PCR.

DNA fingerprint merupakan salah satu bagian atau tipe dari bioteknologi yaitu tipe bioteknologi forensik. Bioteknologi itu sendiri berarti seperangkat teknik yang memanfaatkan organisme hidup atau bagian dari organisme hidup, untuk menghasilkan atau memodifikasi produk, meningkatkan kemampuan tumbuhan dan hewan, mengembangkan mikroorganisme untuk penggunaan khusus yang berguna bagi kehidupan manusia atau lingkungan.

DNA fingerprinting adalah teknik untuk mengidentifikasi seseorang berdasarkan pada profil DNANYa. Ada dua aspek DNA yang digunakan dalam DNA fingerprinting, yaitu di dalam satu individu terdapat DNA yang seragam dan variasi genetik terdapat diantara individu. Prosedur DNA fingerprinting memiliki kesamaan dengan mencocokkan sidik jari seseorang dengan orang lain. Hanya saja perbedaannya adalah proses ini dilakukan tidak menggunakan sidik jari, tetapi menggunakan DNA individu karena secara individu DNA seseorang itu unik. Digunakan DNA karena DNA memiliki materi hereditas yang berfungsi untuk menentukan suatu urutan keturunan dalam suatu keluarga secara turun-menurun dengan pola yang acak (karena berasal dari fusiinti ovum dan sperma) sehingga dapat digunakan untuk identifikasi pelaku kejahatan walaupun telah berganti wajah.

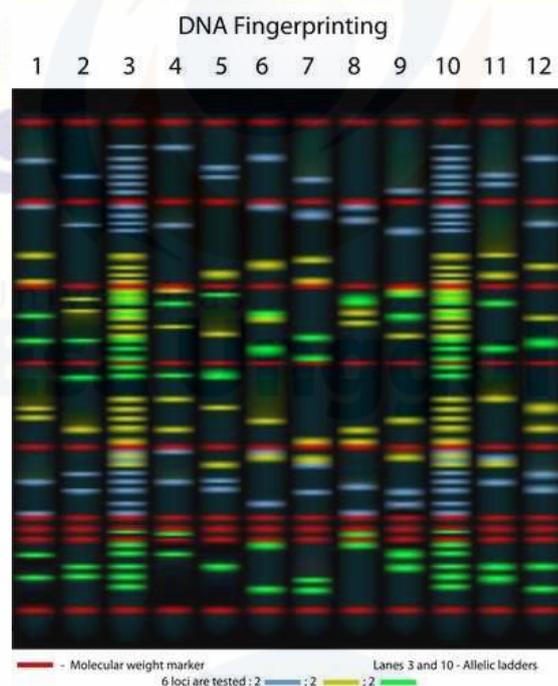
Untuk kasus pemerkosaan diperiksa spermanya tetapi yang lebih utama adalah kepala spermatozoanya yang terdapat DNA inti sel didalamnya. Sedangkan jika di TKP ditemukan satu helai rambut maka sampel ini dapat diperiksa asal ada akarnya. Namun untuk DNA mitokondria tidak harus ada akar, cukup potongan rambut karena diketahui bahwa pada ujung rambut terdapat DNA mitokondria sedangkan akar rambut terdapat DNA inti sel. Bagian-bagian tubuh lainnya yang dapat diperiksa selain epitel bibir, sperma dan rambut adalah darah, daging, tulang dan kuku.

Fingerprint adalah gurat-gurat yang terdapat di kulit ujung jari. Fungsinya adalah untuk memberi gaya gesek lebih besar agar jari dapat memegang benda-benda lebih erat. Sidik jari dapat digunakan sebagai sarana pengamanan dalam melakukan akses ke komputer karena sidik jari mempunyai ciri yang unik, setiap manusia memilikinya, dan selalu ada perbedaan antara yang satu dengan yang lain. Hal ini mulai dilakukan pada akhir abad ke-19. Berikut adalah gambar beberapa macam tipe fingerprint. Perkembangan jaman menuntut analisis yang lebih analitik untuk mendapatkan hasil yang memiliki validitas lebih tinggi untuk kepentingan penyelidikan.

Sehingga dikembangkan DNA Fingerprinting, yang pertama kali diadopsi pada 1984 oleh Alec Jeffreys dari Oxford University. Penemuan Jeffrey ini dapat memberikan metode baru yang dapat mengungkap karakteristik dari masing-masing orang, dengan penanda gennya karena idalam setiap tubuh manusia, binatang, serta tanaman, dan mikroorganisme, terdapat sebuah struktur DNA yang unik.

Analisa DNA fingerprinting adalah teknik analisis untuk mengidentifikasi suatu individu berdasarkan pada fragmen DNA-nya. Keuntungan dari analisis fingerprinting ini, dapat mengetahui kekerabatan, karakterisasi, dan penanda suatu spesies baik hewan maupun tumbuhan.

DNA fingerprinting setiap individu berbeda-beda sehingga dapat digunakan sebagai bukti forensik pada kasus kejahatan. Tes DNA ini bisa digunakan DNA yang terdapat pada inti sel atau DNA mitokondria. Namun DNA inti yang sering digunakan karena DNA mitokondria sering mengalami mutasi. DNA (asam deoksiribonukleat) merupakan cetak biru genetik manusia. Itu ada di hampir setiap sel dari tubuh manusia dan berbeda dalam urutan nukleotida nya (molekul yang membentuk DNA, disingkat dengan huruf, A, T, G, C, atau, adenin, timin, guanin, dan sitosin).



Gambar 6. DNA Fingerprinting

Genom manusia terdiri dari 3 milyar nukleotida, dimana 99,9% identik dari satu orang ke yang berikutnya. Variasinya sekitar 0,1%, karena itu, dapat digunakan untuk membedakan orang yang satu dengan yang lain. Ini adalah perbedaan yang dapat digunakan oleh para ilmuwan forensik untuk mencocokkan spesimen folikel darah, jaringan, atau rambut untuk individu dengan tingkat keakuratan yang tinggi.

DNA dari setiap individu adalah unik, dengan pengecualian pada kembar identik. Sebuah sidik jari DNA, adalah pola DNA yang memiliki urutan yang unik sedemikian rupa sehingga dapat dibedakan dari pola DNA individu-individu lainnya. DNA fingerprinting juga disebut “ketikan DNA”. Sidik jari DNA pertama kali digunakan untuk identifikasi sampel setelah ahli genetika Alec Jeffreys J. dari Universitas Leicester di Inggris menemukan bahwa ada pola materi genetik yang unik untuk setiap individu.

Dia menyebut urutan DNA berulang “minisatellites.” Dua kegunaan utama untuk informasi yang diberikan oleh analisis DNA fingerprinting adalah untuk identifikasi individu dan untuk penentuan ayah. DNA fingerprinting didasarkan pada DNA yang dianalisis dari daerah dalam genom yang terpisah yang disebut intron gen. Intron adalah daerah dalam suatu gen yang bukan bagian dari protein gen pengkode. Mereka keluar disambung selama pemrosesan dari messenger RNA, yang merupakan molekul antara yang memungkinkan DNA untuk mengkodekan protein.

Hal ini berbeda dengan analisis DNA dalam penentuan mutasi yang menyebabkan penyakit, dimana analisis DNA dalam penentuan mutasi yang menyebabkan penyakit, dimana sebagian besar mutasi melibatkan daerah dalam gen yang kode untuk protein yang disebut ekson. DNA fingerprinting biasanya melibatkan intron karena ekson jauh lebih dilestarikan dan karenanya, memiliki variabilitas yang lebih kecil dalam urutannya. DNA fingerprinting pada awalnya digunakan untuk mengidentifikasi penyakit genetik dengan menghubungkan gen penyakit dalam sebuah keluarga yang didasarkan pada penanda dan kemungkinan mereka akan berada dalam jarak dekat, tetapi juga menjadi digunakan untuk investigasi kriminal dan ilmu forensik.

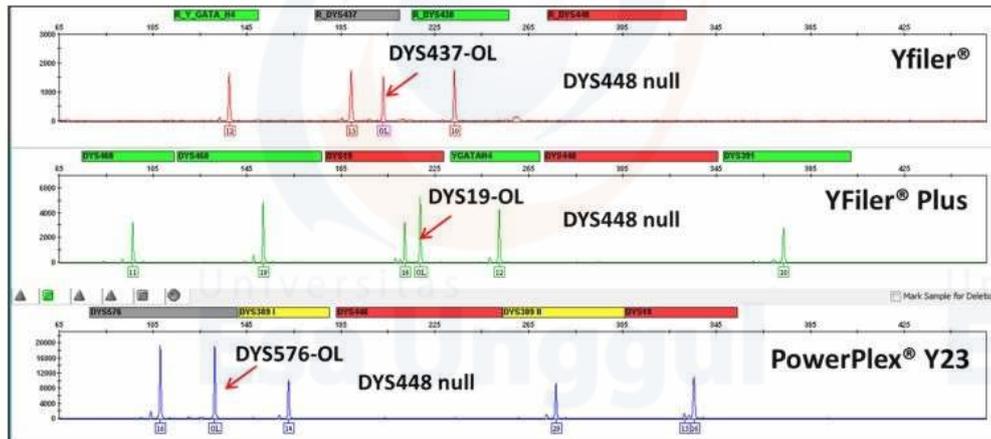
Secara umum, pengadilan Amerika Serikat menerima keandalan analisis DNA dan telah memasukkan hasil ini menjadi bukti dalam banyak kasus di pengadilan. Namun, akurasi hasil, biaya pengujian, dan penyalahgunaan teknik telah membuat kontroversial. Di laboratorium forensik, DNA dapat dianalisis dari berbagai sampel manusia termasuk darah, air mani, air liur, urin, rambut, (sel pipi) bukal, jaringan, atau tulang. DNA dapat diekstraksi

dari sampel dan dianalisa di laboratorium dan hasil dari studi ini dibandingkan dengan DNA dianalisis dari sampel yang dikenal.

DNA diekstraksi dari sampel yang diperoleh dari TKP kemudian dapat dibandingkan dan mungkin cocok dengan DNA yang diekstraksi dari korban atau tersangka. DNA dapat diekstraksi dari dua sumber yang berbeda dalam sel. DNA ditemukan dalam inti sel, juga disebut DNA inti (nDNA) yang lebih banyak memberikan informasi. DNA juga dapat ditemukan dalam organel dalam sel yang disebut mitokondria, yang berfungsi untuk menghasilkan energi yang menggerakkan semua proses seluler yang diperlukan untuk kehidupan. DNA mitokondria (mtDNA) adalah jauh lebih kecil, hanya berisi 16.569 basa nukleotida (dibandingkan dengan nDNA, yang mengandung 3,9 miliar).

Salah satu cara identifikasi DNA manusia dapat dilakukan melalui analisis kromosom Y. Yfiler adalah sebuah kit komersial yang dapat digunakan dalam analisis kromosom Y. Namun, penggunaan Yfiler terbilang baru di Indonesia, khususnya di Laboratorium DNA Pusdokkes Polri, Jakarta. Oleh karena itu, Yfiler perlu divalidasi untuk membuktikan ketepatan dan akurasi fungsi dari kit tersebut. Salah satunya adalah dengan mengetahui jumlah siklus amplifikasi Yfiler tervalid, serta hubungan antara jumlah siklus dengan rata-rata tinggi peak, dan persamaan regresi yang terbentuk. Validasi dilakukan dengan cara memodifikasi jumlah siklus amplifikasi.

AmpFISTR® Yfiler® PCR Amplification Kit merupakan kit yang digunakan dalam pengujian STR yang dapat mengamplifikasi 17 lokus Y-STR dalam satu amplifikasi PCR. Jumlah ini didasarkan penggabungan yang dianjurkan oleh Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (DYS438 dan DYS439), haplotype minimal negara-negara Eropa (DYS19, DYS385a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393), dengan tambahan lokus Y-STR (DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 (Y GATA C4), dan Y GATA H4). Yfiler mengandung semua reagen yang diperlukan untuk amplifikasi DNA genom laki-laki secara spesifik. Yfiler memungkinkan untuk menganalisis secara spesifik keberadaan DNA laki-laki di antara tingginya konsentrasi DNA perempuan, meskipun berada dalam campuran DNA perempuan yang jumlahnya lebih dari 1000 kali lipatnya.



Gambar 7. Lokus pada Y kromosom dengan menggunakan kit Yfiller untuk amplifikasi gen pada kromosom Y

Laboratorium DNA Pusdokes Polri akan menggunakan kit Yfiler sebagai alat bantu identifikasi dalam kasus-kasus yang berkaitan dengan adanya individu laki-laki. Namun, sebelum digunakan sebagai alat identifikasi perlu dilakukan validasi Yfiler agar didapatkan hasil yang baik, akurat, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Yfiler sendiri merupakan kit komersial yang berarti bahwa pada dasarnya metode pada kit ini sudah terstandarisasi dan telah teruji dengan baik. Namun, meskipun beberapa produsen kit mungkin memiliki proses kontrol kualitas (QC) yang ketat, kit mungkin tidak akan sepenuhnya bebas dari kesalahan (error-free). Oleh karena itu, kit perlu divalidasi kembali untuk melihat apakah metode yang dilakukan di laboratorium akan sesuai atau melebihi standar. Cakupan metode standar harus sesuai dengan cakupan laboratorium, sehingga persyaratan metode dan kesesuaian dari keseluruhan sistem analitik dalam lingkungan laboratorium harus diverifikasi untuk metode ini.

Salah satu aspek yang perlu diuji dalam validasi Yfiler adalah dengan menguji jumlah siklus amplifikasi untuk mendapatkan jumlah siklus amplifikasi teroptimal dari Yfiler™ Kit. Kondisi PCR teroptimal (temperatur denaturasi, annealing, dan extension, serta waktu) diuji dengan mengurangi atau menambahkan jumlah siklus dari protokol standar untuk mengevaluasi kinerja sistem multipleks STR. Sensitivitas deteksi alel dari masing-masing lokus tentu saja tergantung pada kualitas template DNA yang dimasukkan. Dengan mempelajari jumlah siklus, memungkinkan laboratorium untuk menentukan tingkat toleransi sistem multipleks STR dengan berbagai jumlah template DNA. Jumlah siklus PCR yang lebih mungkin dapat lebih baik dalam mengamplifikasi genom DNA yang berkualitas

rendah, dengan kata lain produk amplifikasi nonspesifik yang dihasilkan akan meningkat seiring dengan semakin banyaknya jumlah siklus PCR yang digunakan.

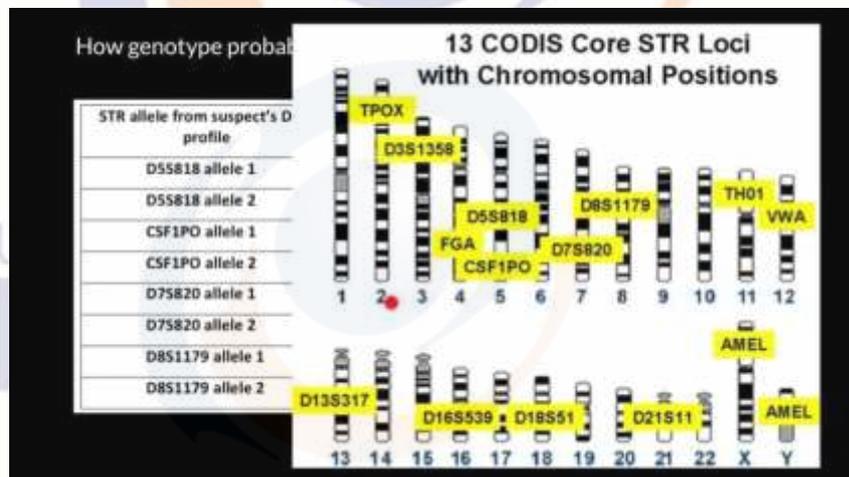
5. Uji similaritas hubungan kekerabatan

Penggunaan teknologi DNA typing telah digunakan oleh FBI dengan menggunakan bank data DNA nasional yang disebut CODIS (Combined DNA Index System). Dua tujuan utama untuk operasi CODIS yang membantu peneliti dalam identifikasi tersangka kejahatan kekerasan, dan meningkatkan efektivitas laboratorium forensik dengan menyediakan perangkat lunak untuk melakukan kerja kasus DNA dan melakukan perhitungan statistic. CODIS adalah database catatan hirarki identifikasi DNA. Catatan DNA CODIS berisi informasi terbatas untuk memungkinkan pencarian profil. Secara umum, catatan identifikasi berisi pengenalan laboratorium, pengenalan spesimen, karakteristik DNA, dan informasi untuk mengklasifikasikan dan meninjau catatan integritas DNA.

Untuk benar-benar fungsional untuk membandingkan profil DNA, Laboratorium FBI harus menjadi jaringan terintegrasi antara lokal, negara bagian, dan laboratorium kriminal federal. Memungkinkan laboratorium kejahatan penegak hukum federal, negara bagian dan lokal untuk bertukar dan membandingkan profil DNA untuk menghubungkan kejahatan kekerasan seri dan untuk mengidentifikasi potensi tersangka dengan mencocokkan profil DNA dari bukti TKP dan profil pelaku.

Untuk tujuan menerapkan teknologi berbasis PCR untuk pengujian identitas manusia dan karenanya penggunaan bank data DNA nasional, penanda genetik polimorfik didefinisikan, teknik analisis yang kuat, dan studi populasi diperlukan. Short tandem repeats (STR) adalah bagian DNA yang pendek dan bersifat polimorfik yang paling informatif berdasarkan PCR untuk mencoba untuk mengindividualisasi bahan biologis. Locus STR terdiri dari urutan tandem berulang (masing-masing dua sampai tujuh pasang basa panjangnya), sangat informatif, dan ketika diperkuat secara bersamaan dalam PCR multipleks, bisa sangat efektif untuk mengidentifikasi berbagai sampel forensik. Keputusan untuk memilih locus STR sebagai penanda genetik untuk CODIS sangat jelas (Butler, 2006). Laboratorium FBI bersama komunitas ilmuwan forensik untuk membangun inti locus STR untuk indeks DNA nasional. Pada tanggal 9 April 1996, pertemuan organisasi, didukung oleh program Laboratorium FBI CODIS, diadakan untuk mendirikan sebuah agenda proyek penelitian untuk memvalidasi aplikasi forensik dari sejumlah locus STR untuk mengetik bukti biologis DNA (Butler, 2006). Tujuan dari pertemuan ini adalah untuk

mengidentifikasi calon lokus STR yang dapat dianalisis dengan deteksi fluorescent, untuk menentukan tugas penelitian laboratorium untuk berpartisipasi dan melaporkan hasil pada selang waktu tertentu. Tujuan antisipasi adalah untuk menguji, mengevaluasi, dan / atau mengoptimalkan PCR dan kondisi menyetik untuk komersial yang tersedia kit STR yang berisi kandidat tanggal lokus STR untuk semua laboratorium dalam mengevaluasi protokol, setelah kondisi ketikan yang diinginkan didirikan untuk membangun basis data kependudukan yang relevan, melakukan pencemaran lingkungan dan studi evaluasi kerja kasus. Lokus STR yang dievaluasi adalah CSF1PO, F13AO1, F13B, FES / FPS, FGA, TH01, LPL, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S359, D18S51, dan D21S11 (Butler, 2006). Pada pertemuan proyek STR 13-14 November 1997 lokus inti untuk sistem nasional disepakati oleh laboratorium.



Gambar 8. CODIS pada beberapa kromosom manusia yang digunakan standar dalam uji Forensik

Agar mendapatkan nilai validasi penuh dari uji STR dan untuk memastikan kompatibilitas untuk pencarian profil DNA, semua sampel menggunakan semua 13 lokus STR dapat di praktekkan ketika menganalisis kasus. Analisis Polymerase Chain Reaction (PCR) Polymerase chain reaction (PCR) digunakan untuk membuat jutaan kopi DNA dari sampel biologis. Amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR menyebabkan analisis DNA pada sampel biologis hanya membutuhkan sedikit sampel dan dapat diperoleh dari sampel yang halus seperti rambut. Kemampuan PCR untuk mengamplifikasi sejumlah kecil DNA memungkinkan untuk menganalisa sampel yang sudah terdegradasi sekalipun.

Namun, tetap saja harus dicegah kontaminasi dengan materi biologis yang lain selama melakukan identifikasi, koleksi dan menyiapkan sampelnya. Tes DNA dilakukan dengan cara mengambil DNA dari kromosom sel tubuh (autosom) yang mengandung area STR (short tandem repeats), suatu area ini tidak memberi kode untuk melakukan sesuatu. STR inilah yang bersifat unik karena berbeda pada setiap orang.

Perbedaannya terletak pada urutan pasang basa yang dihasilkan dan urutan pengulangan STR. Pola STR ini diwariskan dari orang tua. Aplikasi teknik ini misalnya pada tes DNA untuk paternalitas (pembuktian anak kandung) yaitu tes DNA untuk membuktikan apakah seorang anak benar-benar adalah anak kandung dari sepasang suami istri. Cara memeriksa tes DNA dilakukan dengan cara mengambil STR dari anak. Selanjutnya, di laboratorium akan dianalisa urutan untaian STR ini apakah urutannya sama dengan seseorang yang dijadikan pola dari seorang anak. Urutan tidak hanya satusatunya karena pemeriksaan dilanjutkan dengan melihat nomor kromosom. Misalnya, hasil pemeriksaan seorang anak ditemukan bahwa pada kromosom nomor 3 memiliki urutan kode AGACT dengan pengulangan 2 kali.

Universitas
Esa Unggul

Referensi

- Anonimous. (2010). "Hair". <http://wikipedia.org/hair.htm>. Diunduh tanggal 20 sJuli 2010.
- Durney, Brandon C., et al. 2015. "Elektroforesis kapiler diterapkan pada DNA: menentukan dan memanfaatkan urutan dan struktur untuk memajukan bioanalisis (2009-2014)." Kimia Analitik dan Bioanalitik, Springer Berlin Heidelberg,
- Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).
- Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2
- Zaya DN, Ashley MV. 2012. [Plant genetics for forensic applications](#). *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.
- Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).
- Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing BioTechniques 43:Sii-Sv
- Jurnal Biosains Pascasarjana Vol. 19 (2017) pp © (2017) Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga, Indonesia PENGARUH RENDAMAN AIR TERHADAP KUALITAS DNA PADA SPERMA DENGAN STR-CODIS D13S317 DAN D21S1 Abdul Hadi Furqoni *1 , Ahmad Yudianto2 , Puspa Wardhani 3



MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK

(IBK 582)

Pertemuan ke 12

Topik :

Data Base DNA

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, S.Si., M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

DATA BASE DNA

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan pengertian Data base DNA
2. Menganalisis berbagai jenis Data Base DNA dan kegunaannya dalam analisis DNA forensic

B. Uraian

1. Pendahuluan

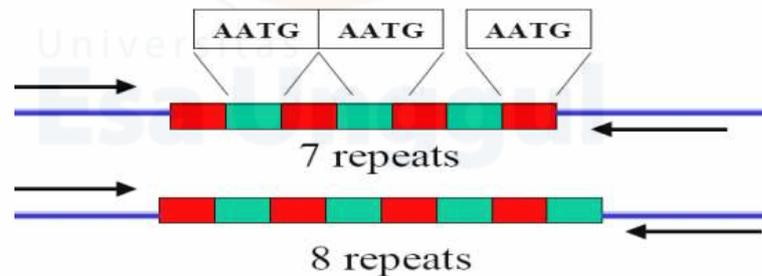
Basis data adalah kumpulan informasi yang disimpan di dalam komputer secara sistematis sehingga dapat diperiksa menggunakan suatu program komputer untuk memperoleh informasi dari basis data tersebut. Sesuai dengan jenis informasi biologis yang disimpannya, basis data sekuens biologis dapat berupa basis data primer untuk menyimpan sekuens primer asam nukleat maupun protein , basis data sekunder untuk menyimpan motif sekuens protein, dan basis data struktur untuk menyimpan data struktur protein maupun asam nukleat. Basis data utama untuk sekuens asam nukleat saat ini adalah NCBI, GenBank (Amerika Serikat), EMBL (European Molecular Biology Laboratory, Eropa), dan DDBJ (DNA Data Bank of Japan, Jepang).

Ketiga basis data tersebut bekerja sama dan bertukar data secara harian untuk menjaga keluasan cakupan masing-masing basis data. Sumber utama data sekuens asam nukleat adalah submisi langsung dari periset individual, proyek sekuensing genom , dan pendaftaran paten . Selain berisi sekuens asam nukleat, entri dalam basis data sekuens asam nukleat umumnya mengandung informasi tentang jenis asam nukleat (DNA atau RNA), nama organisme sumber asam nukleat tersebut, dan pustaka yang berkaitan dengan sekuens asam nukleat tersebut.

Pada pemeriksaan DNA forensic digunakan metode pemeriksaan dengan uji sekuens Short tandem Repeat (STR). Jumlah pengulangan dalam penanda STR bisa sangat beragam di antara individu yang bersifat spesifik sehingga efektif untuk tujuan identifikasi manusia. Ukuran alel STR yang kecil tersebut membuat penanda STR yang sering digunakan dalam kasus-kasus forensik, terutama pada kondisi banyak DNA yang terdegradasi. *Short Tandem Repeats* dalam bidang genetika manusia, khususnya dalam aplikasi di bidang kedokteran forensik merupakan mikrosatelit. Pada uji STR ini terlebih dahulu dilakukan desain primer STR yang diambil dari data base DNA.

Mikrosatelit adalah urutan basa N pada DNA, yang terdiri dari dua sampai tujuh basa N (disebut sebagai motif) yang berulang-ulang, dengan atau tanpa sela. Misalnya,

motif GAG yang memiliki pengulangan 10 kali atau (GAG)₁₀ akan memiliki bentuk sebagai berikut: GAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG. Panjang pengulangan ini bervariasi tergantung individu/varietas dan diwariskan kepada generasi berikutnya. Mikrosatelit dikenal pula sebagai SSR atau *Simple Sequence Repeats*.



Gambar 1. Perulang basa DNA pada STR yang khas pada setiap orang sehingga dapat digunakan sebagai proses identifikasi seseorang pada kasus forensic

2. Short Tandem Repeat (STR)

Genom eukariotik, dalam hal ini genom manusia, dalam DNA inti bisa mengandung unit-unit pengulangan panjang ratusan hingga ribuan daerah berulang. Daerah DNA dengan panjang unit-unit pengulangan (core sequence) kurang dari 1 kb (kilobase) disebut mikrosatelit atau short tandem repeat (STR) atau simple sequence repeat (SSR). Short Tandem Repeat (STR) menjadi penanda pengulangan DNA yang populer karena berbagai lokus STR memiliki ukuran alel yang kecil (kurang dari 1 kb dan rata-rata terbanyak 300 bp) maka dapat diamplifikasi dengan mudah dengan PCR dan sampel yang telah terdegradasi pun dapat dianalisis.

Amplifikasi PCR dari sampel DNA yang terdegradasi bisa visualisasikan dengan lebih baik pada ukuran produk/penanda yang kecil. Autosomal Short Tandem Repeats (STRs) Federal Bureau Investigation (FBI) dan komunitas ahli forensik dunia telah mendesain 13 lokus sebagai sistem identifikasi forensik nasional dengan bersinergis dengan Combined DNA Index System (CODIS) database. Lokus STR tersebut meliputi TH01, TP0X, CSF1PO, vWA, FGA, D3S1358, D5S818, D7S820, D13S317, D16S539, D8S1179, D18S51, dan D21S11.

Lokus-lokus STR tersebut seperti Tabel 1 berikut ini. Tabel tersebut menunjukkan Informasi 13 lokus CODIS berdasarkan nama, letak atau lokasi pada kromosom, pola pengulangan nukleotidanya dari tiap lokus serta kode akses pada GenBank.

Tabel 1. Letak CODIS pada kromosom manusia

Locus Name	Chromosomal Location	Repeat Motif ISFH format	GenBank Accession	Allele in GenBank	Allele Range	Number of Alleles Seen*
CSF1PO	5q33.3-34	TAGA	X14720	12	6-16	15
FGA	4q28	CTTT	M64982	21	15-51.2	69
TH01	11p15.5	TCAT	D00269	9	3-14	20
TPOX	2p23-pter	GAAT	M68651	11	6-13	10
VWA	12p12-pter	[TCTG][TCTA]	M25858	18	10-24	28
D3S1358	3p	[TCTG][TCTA]	NT_005997	18	9-20	20
D5S818	5q21-31	AGAT	G08446	11	7-16	10
D7S820	7q11.21-22	GATA	G08616	12	6-15	22
D8S1179	8	[TCTA][TCTG]	G08710	12	8-19	13
D13S317	13q22-31	TATC	G09017	13	5-15	14
D16S539	16q24-qter	GATA	G07925	11	5-15	10
D18S51	18q21.3	AGAA	L18333	13	7-27	43
D21S11	21q21	Complex [TCTA][TCTG]	AP000433	29	24-38	70

* Butler, *Forensic DNA Typing*, Appendix 1

Pada tabel 1 menunjukkan lokasi dari 13 lokus STR CODIS pada tiap kromosom manusia:

1. TPOX terletak pada kromosom 2
2. Lokus D3S1358 terletak pada kromosom 3
3. Lokus FGA pada kromosom 4
4. Lokus CSF1PO dan D5S818 terletak pada kromosom 5
5. Lokus D7S820 pada kromosom 7
6. Lokus D8S1179 pada kromosom 8
7. Lokus THO1 pada kromosom 11
8. Lokus vWA pada kromosom 12
9. Lokus D13S317 pada kromosom 13
10. Lokus D16S53 pada kromosom 16
11. Lokus D18S51 pada kromosom 18
12. Lokus D21S11 pada kromosom 21

Pemberian tata nama disesuaikan dengan nama gen yang ada di dalamnya namun juga ada berdasarkan letak dalam kromosom, misalnya pada lokus D7S820 yang mempunyai arti : 23 D : DNA, 7 : merupakan nomor kromosom (7: kromosom 7), S : single copy sequence, 820 : menunjukkan deskripsi lokus ke 820 pada kromosom tersebut. Di antara beberapa jenis penanda STR, pengulangan tetranukleotida (core sequence 4 bp misalnya AATG menjadi lebih populer daripada dinukleotida atau trinukleotida .

Sementara itu, contoh beberapa basis data penting yang menyimpan sekuens primer protein adalah PIR (Protein Information Resource, Amerika Serikat), Swiss-Prot (Swiss), dan TrEMBL (Eropa). Ketiga basis data tersebut telah digabungkan dalam UniProt (yang didanai terutama oleh Amerika Serikat). Entri dalam UniProt mengandung informasi tentang sekuens protein, nama organisme sumber protein, pustaka yang berkaitan, dan komentar yang umumnya berisi penjelasan mengenai fungsi protein tersebut.

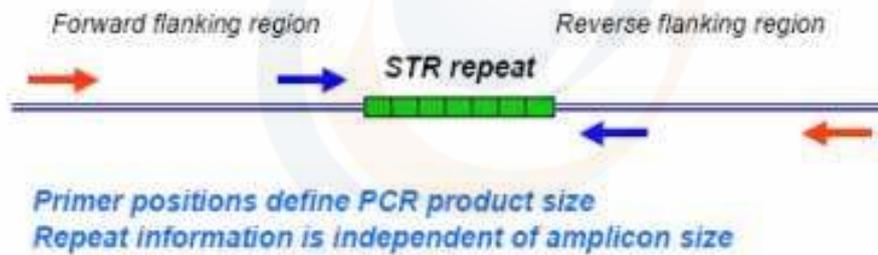
European DNA Profiling Group (EDNAP) dan rekomendasi European Network of Forensic Science Institute (ENSFI), pada pertemuan kerja Interpol tahun 1997, mengemukakan empat standar lokus STR yang digunakan, yakni: HUMTH01 (human THO1), HUMWFA31, D21S11 dan HUMFIBRA/FGA, ditambah dengan lokus D3S21358, D8S1179 dan D18S51. Lokus VNTR yang direkomendasikan dalam pemeriksaan meliputi: D1S80, D17S5, APO-B, D16S83 dan D17S766.

Kedua sistem tersebut di atas (CODIS dan EDNAP), dapat digunakan untuk keperluan identifikasi DNA forensik maupun untuk keperluan pemeriksaan paternitas atau paternity testing. Hal ini mengingat kedua keperluan tersebut memiliki prinsip yang sama, yakni didasarkan pada hukum Mendel tentang pewarisan sifat pada individu yang diidentifikasi maupun yang akan ditentukan status keayahannya.

Pada kondisi DNA yang telah mengalami degradasi, maka dibutuhkan sebuah terobosan agar sampel yang tidak dalam kondisi bagus tersebut, masih dapat digunakan dalam proses analisis DNA. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah melalui desain primer pada lokus STR dengan produk amplifikasi pasangan basa yang lebih kecil, yang dikenal dengan mini primer STR design.

3. Desain mini primer Short Tandem Repeat (STR)

Desain mini primer STR dirancang untuk sampel degraded DNA dan berdasarkan pada pengurangan ukuran dari produk PCR, sehingga menggeser posisi primer ke arah yang lebih dekat daerah perulangan STR. Cara ini ternyata berhasil memperoleh produk amplifikasi dengan ukuran yang lebih kecil, sebagai produk PCR dari STR marker. Desain mini primer STR dilakukan dengan menggunakan data base DNA pada NCBI, GenBank (Amerika Serikat), EMBL (European Molecular Biology Laboratory, Eropa), dan DDBJ (DNA Data Bank of Japan, Jepang).



Gambar 2. Ilustrasi pengurangan ukuran primer STR.

Panah warna merah merupakan primer eksternal yang umum digunakan sedangkan panah warna biru merupakan primer internal untuk mini primer STR. Mini primer set dirancang berdasar desain primer dengan menggunakan kriteria-kriteria sebagai berikut :

1. Panjang primer antara 17–28 basa;
2. Efisiensi meningkat, jika primer berhenti pada (3') G atau C, atau CG atau GC;
3. Komposisi basa: (G+C)= 50-60%;
4. Suhu annealing antara 550C-800C;
5. Hindari perulangan tiga atau lebih dari basa C atau G pada ujung 3' primer, karena akan memicu terjadinya mispriming pada sekuensing yang kaya akan G atau C;
6. Ujung 3' dari primer tidak saling berkomplementer karena menimbulkan primer-dimer dan hindari primerself-complementarity .

Salah satu keuntungan dari metode ini adalah sampel DNA yang sudah terdegradasi, masih dapat diamplifikasi dengan PCR. Dengan demikian identifikasi forensik, masih dapat dilakukan. Hanya saja tidak semua STR marker yang ada selama ini dapat dikembangkan menjadi mini primer STR set.

Salah satu keuntungan dari metode amplifikasi DNA dengan STR adalah sampel DNA yang sudah terdegradasi, masih dapat diamplifikasi dengan PCR. Dengan demikian identifikasi forensik, masih dapat dilakukan. Hanya saja tidak semua STR marker yang ada selama ini dapat dikembangkan menjadi mini primer STR set.

Berbagai lokus STR dibagi empat kategori yaitu:

1. Pengulangan sederhana yang mengandung satu rangkaian pengulangan: TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D16S539
2. Pengulangan sederhana dengan alel non-consensus: THO1, D18S51, D7S820
3. Pengulangan campuran dengan alel non-consensus: vWA, FGA, D3S1358, D8S1179
4. Pengulangan kompleks: D21S11.

Lokus CSF1PO merupakan pengulangan tetranukleotida yang ditemukan dalam c-fms proto-oncogene untuk reseptor CSF-1 pada lengan panjang kromosom 5 (5q33.3-34). Lokus ini berukuran antara 295–327 basepair. Umumnya alel ini mengandung pengulangan urutan inti (core sequence repeat) TA-G-A dan berjumlah 7 hingga 15 kali.

Lokus FGA merupakan pengulangan tetranukleotida campuran yang ditemukan dalam intron ketiga dari Human Alpha Fibrinogen pada lengan panjang kromosom 4 (4q28). FGA juga disebut sebagai FIBRA atau HUMFIBRA. Lokus tersebut mengandung pengulangan C-T-T-T. Berjumlah 15 hingga 35 kali pengulangan.

Lokus THO1 merupakan pengulangan tetranukleotida sederhana yang ditemukan dalam intron 1 dari gen tyrosine hydroxylase pada lengan pendek kromosom 11 (11p15.5). THO1 memiliki rangkaian sederhana dengan motif pengulangan T-C-A-T. Lokus ini berukuran antara 179 sampai 203 basepair dengan pola pengulangan berjumlah 5 sampai 11 kali.

Pada lokus TPOX merupakan pengulangan tetranukleotida sederhana yang ditemukan dalam intron 10 dari gen thyroid peroxidase pada lengan pendek kromosom 2 (2p23-pter). TPOX memiliki rangkaian motif pengulangan GA-A-T. Lokus ini berukuran antara 224 sampai 252 basepair dengan jumlah pola pengulangan antara 6 sampai 13 kali.

Lokus vWA merupakan pengulangan tetranukleotida campuran yang ditemukan dalam intron 40 dari gen von Willebrand Factor pada lengan pendek kromosom 12 (12p12-pter). vWA memiliki motif pengulangan (T-C-G-T)(T-C-T-A). Lokus ini memiliki rentang ukuran 139 sampai 167 basepair dengan pola pengulangan sejumlah antara 13 sampai 20 kali.

Lokus D13S317 merupakan lokus dengan pengulangan tetranukleotida sederhana yang ditemukan pada lengan panjang kromosom 13 (13q22-31). Memiliki motif pengulangan T-A-T-C. Lokus ini memiliki ukuran 165 sampai 197 basepair dengan pola pengulangan sejumlah 7 sampai 15 kali.

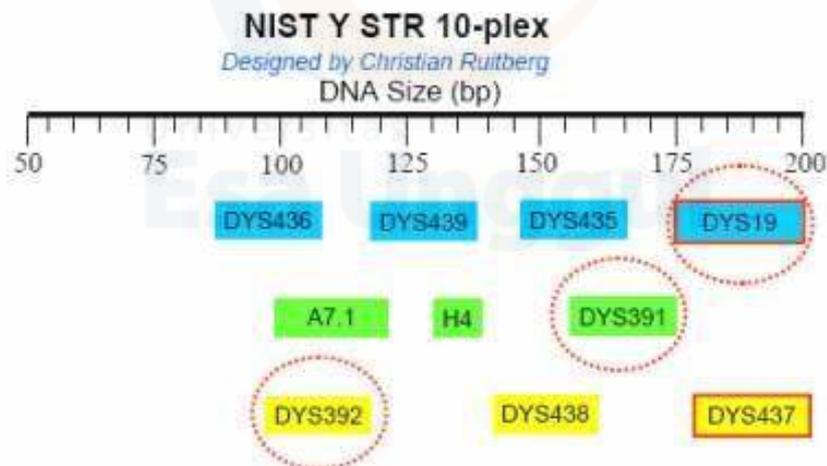
Lokus D7S820 merupakan pengulangan tetranukleotida sederhana yang ditemukan pada lengan panjang kromosom 7 (7q11.21-22), memiliki motif pengulangan G-A-T-A. Lokus ini memiliki rentang ukuran 215 sampai 247 basepair dengan jumlah pola pengulangan 6 sampai 14 kali.

Lokus D16S539 merupakan pengulangan tetranukleotida yang ditemukan pada kromosom 16 (16q24-qter), memiliki motif pengulangan G-A-T-A. Lokus ini memiliki rentang ukuran 264 sampai 304 basepair dengan pola pengulangan sejumlah antara 5,8 sampai 15.

Lokus D21S11 yang merupakan pengulangan tetranukleotida kompleks dengan motif pengulangan (T-C-TA)(T-C-T-G) pada kromosom 21. Lokus ini sering digunakan dalam penegakan diagnostik pada kelainan Down Syndrome pada anak-anak.

4. Desain mini primer Y kromosom

Y-ChromosomeSTRs (Y-STRs) Sebagaimana pemeriksaan STR lainnya, pemeriksaan YChromosom STRs merupakan pemeriksaan DNA yang menggunakan dasar perulangan nukleotida dari intron. Karena hanya saja perulangan yang terletak pada intron kromosom Y yang diperiksa, maka pemeriksaan ini disebut dengan pemeriksaan Y-STRs. Pada kasus perkosaan di mana jumlah sel sperma yang kemungkinan tertinggal dalam vagina korban dalam jumlah sedikit pada waktu dilakukan vaginal swab, maka peran pemeriksaan kromosom Y sangat menentukan untuk membuktikan pelaku pemerkosaan yang sebenarnya. Kelemahan dari kromosom Y ini terletak pada sifat kromosom ini yang tidak bersifat individual sebagaimana pemeriksaan STR lainnya, di mana pada pemeriksaan kromosom Y tidak dapat dibedakan apakah DNA tersebut berasal dari bapak, anak atau saudara laki-laki dari pelaku. Kasus terkenal yang diperiksa dengan menggunakan analisis kromosom Y adalah kasus Thomas Jefferson yang diduga memiliki anak hasil hubungan gelapnya dengan seorang budak.



Gambar 3. Delapan lokus untuk pemeriksaan Y-STRs

The international Society of Forensic Genetic (ISFG) merekomendasikan melalui Komisi DNA yakni 8 lokus untuk pemeriksaan Y-STRs yakni DYS19, DYS385a, DYS385b, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS392 dan DYS393. Pada tabel 2.2. di bawah ini menunjukkan letak lokuslokus Y-STRs serta pola pengulangan nukleotidanya dari setiap lokus dan besar rentang ukuran base pairs (bp). Alell range DYS19: 10-19, DYS389I: 9-17 dan DYS390: 17-28. 29.

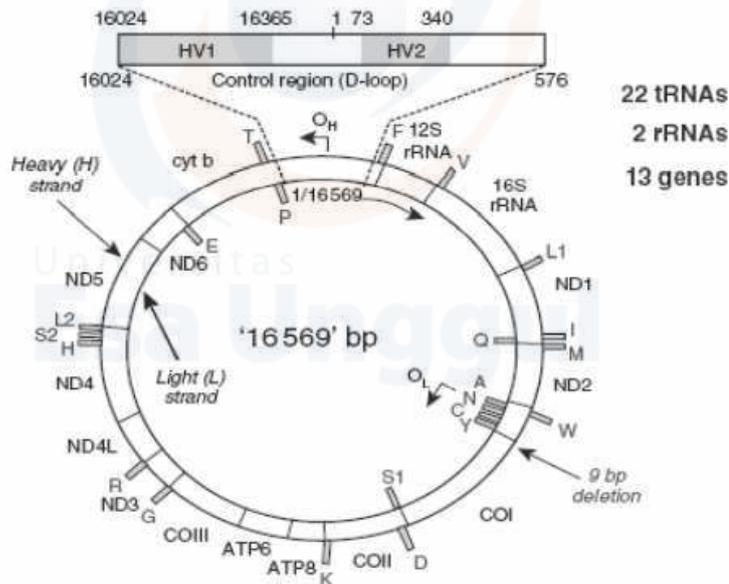
Tabel 2. Informasi tentang penanda Y-STRs

STR Marker	Position (Mb)	Repeat Motif	Allele Range	PCR Product Size	STR Diversity
DYS393	3.04	AGAT	8–16	104–136 bp	0.363
DYS19	9.44	TAGA	10–19	232–268 bp	0.498
DYS391	13.41	TCTA	6–13	90–118 bp	0.552
DYS437	13.78	TCTA	13–17	183–199 bp	0.583
DYS439	13.83	AGAT	8–15	203–231 bp	0.639
DYS389II	13.92	TCTG TCTA	10–15/24–34	148–168 bp/256–296 bp	0.538 /0.675
DYS438	14.25	TTTTTC	8–12	101–121 bp	0.594
DYS390	16.52	TCTA TCTG	18–27	191–227 bp	0.701
DYS385 a/b	20.00, 20.04	GAAA	7–25	243–315 bp	0.838
DYS392	21.78	TAT	7–18	294–327 bp	0.596

5. Desain mini primer DNA mitokondria (mtDNA)

Ketika DNA inti mengalami degradasi sehingga terdapat dalam jumlah terbatas, maka alternatif pemeriksaan yang digunakan adalah dengan menggunakan DNA yang terdapat pada mitokondria atau yang dikenal dengan nama mitochondria DNA (mtDNA). Mitochondria DNA ini sangat efektif bila digunakan pada pemeriksaan DNA pada sisa jaringan lama yang mengalami dekomposisi atau skeletonisasi.

DNA mitokondria (mtDNA) merupakan DNA beruntai ganda berbentuk lingkaran tertutup yang telah diketahui urutan nukleotidanya secara lengkap serta hampir tidak memiliki intron. DNA mitokondria yang terdapat pada organel sel, dikenal dengan sebutan "power house" dari sel dan memiliki ukuran sebesar 16.569 base pairs. mtDNA menyandi 37 gen (coding region) yang terdiri dari 13 polipeptida untuk protein kompleks rantai respirasi, 22 tRNA, dan 2rRNA yang berfungsi dalam proses sintesis protein mitokondria, serta daerah yang tidak menyandi (non coding region), yang disebut dengan displacement loop (D-loop), yang memiliki panjang 1100 bp. D-loop merupakan daerah mtDNA yang tidak mengkode polipeptida, memiliki laju mutasi yang 30 tinggi (5-10 kali) dibandingkan dengan DNA inti sehingga memiliki kemampuan diskriminasi yang tinggi. Hal ini disebabkan karena mtDNA memiliki mekanisme reparasi yang terbatas, tidak mempunyai protein histon sebagai pelindung.



Gambar 4. Struktur DNA mitokondria.

Disamping itu juga D-loop berperan dalam regulasi ekspresi genetik mtDNA. Daerah ini memiliki makna yang sangat besar bagi pemeriksaan forensik, karena sekuens yang terdapat pada D-loop ini cenderung bervariasi (polimorfisme) pada masing-masing individu, yaitu pada daerah HVR1 (nt 16024-16365) dan HVR2 (nt 73-340). D-loop merupakan struktur DNA beruntai ganda yang mengandung bagian rantai H (heavy) yang berupa 7S DNA, di mana basa nukleotidanya berpasangan dengan rantai L (light). D-loop meliputi sekuens DNA sepanjang 118 bp antara nukleotida 16028-577 yang dibatasi oleh gen tRNA phe dan tRNA pro.

Perbedaan penting antara DNA inti dengan DNA mitokondria terletak pada pola pewarisan. Berbeda dengan sistem genetik DNA inti yang mengikuti hukum Mendel, mtDNA diwariskan secara maternal. Seorang ibu akan mewariskan mtDNA-nya pada seluruh keturunannya dan anak-anak perempuannya akan meneruskan ke generasi berikutnya. Pada DNA inti dapat terjadi rekombinasi dan bersifat diploid, sedangkan mtDNA bersifat haploid. DNA mitokondria berbentuk sirkular, di mana dengan bentuk ini menjadikan mtDNA lebih stabil dan resisten terhadap pengaruh yang berasal dari luar. Inner strand dari mtDNA disebut dengan the light (L) strand, sedang strand bagian luar atau outer strand disebut dengan the heavy (H) strand.

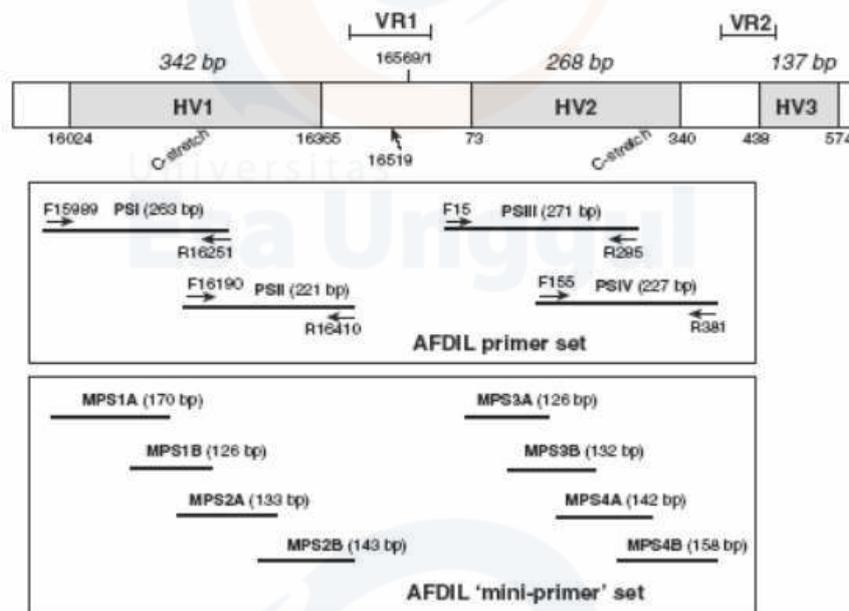
Dibandingkan dengan DNA inti, mtDNA memiliki kelebihan yang sangat berguna bagi sebuah proses identifikasi. Kelebihan tersebut berupa: setiap sel terdapat sekitar 1.000- 10.000 kopi mtDNA. mtDNA berstruktur sirkular sehingga membuat stabil serta resisten terhadap bahaya degradasi, mtDNA bersifat haploid sehingga mempermudah

untuk dilakukan direct sequencing selama analisis dan adanya highly polymorphic region dalam D-loop, yang membuat mtDNA sangat cocok untuk keperluan forensik.

Tabel 2. Perbedaan DNA inti dan DNA mitokondria

Karakteristik	DNA inti	mtDNA
Ukuran	3 milyar pb	16.569 pb
Kopi/Sel	2	Bisa > 1000
Struktur	Linier	Sirkular
Penurunan	Hukum Mendel	Maternal
Rekombinasi	Ya	Tidak
Laju Mutasi	Rendah	Tinggi
Sekuens	Human Genom Project	Anderson <i>et al</i> 1981

Dalam identifikasi forensik terutama pada kasus dengan degradasi DNA, AFDIL telah menetapkan standard primer set bagi amplifikasi DNA mitokondria yang rata-rata mempunyai amplicon size berada pada kisaran 300 base pairs. Adapun produk amplifikasi dengan mini primer set dari AFDIL berada pada kisaran produk PCR 150 bp.



Gambar 5 Pemetaan daerah atau region dari DNA mitokondria pada D-loop yang digunakan sebagai dasar disain mini primer DNA mitokondria.

Pada F15971/R16410 dan F15/R389, daerah primer dirancang pada hypervariable (HV) yang dipilih tergantung pada degradasi mtDNA yang terjadi pada sampel dan posisi amplicon yang diharapkan. Secara teoritis dengan menurunkan amplicon size, maka jumlah degraded mtDNA yang dapat diamplifikasi dan sensitivitas reaksi akan meningkat.

6. Data base DNA NCBI

Pengenalan NCBI (National Center for Biotechnology Information) NCBI merupakan server yang memuat data base tentang informasi kesehatan dan bioteknologi. Data base terus menerus di update sesuai dengan penemuan-penemuan terkini yang menyangkut DNA, Protein, Senyawa aktif dan taksonomi. Disamping data base, NCBI juga menyediakan berbagai macam software untuk analisis DNA, protein 3D, pencarian primer, pencarian conserve domain dan lain sebagainya. NCBI merupakan salah satu bank data gen, protein dan literature khususnya di bidang kesehatan yang terlengkap dan menjadi acuan oleh para peneliti didunia.



Gambar 8. Website NCBI

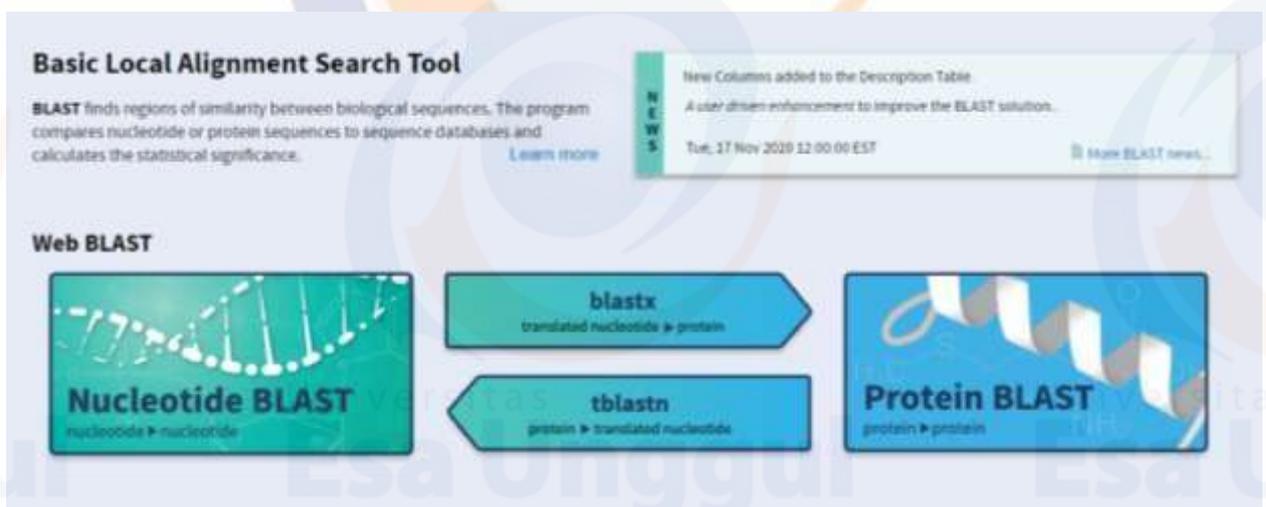
NCBI memiliki database dan software (analysis tools) yang sering digunakan untuk analisis adalah sebagai berikut:

A. DNA-RNA TOOLS: GenBank

Bank Gen ini bagian dari database nukleotida internasional yang bekerja sama dengan DataBank of Japan (DDBJ), the European Molecular Biology Laboratory (EMBL), and GenBank at NCBI. Database of Expressed Sequence Tags (dbEST) GenBank yang berisi short single-pass reads of cDNA (transcript) sequences/EST. Database of Genome Survey Sequences (dbGSS) GenBank yang berisi short single-pass reads of genomic DNA/GSS.

B. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)

Software yang dapat digunakan untuk menentukan homologi suatu urutan DNA atau asam amino dengan data yang ada di NCBI. BLAST memiliki beberapa pilihan menu sesuai dengan analisis yang akan dikerjakan. Alignment analysis, sekuen yang diperoleh dari hasil penelitian di laboratorium dapat dianalisis dengan data serupa yang telah dipublikasikan sebelumnya di gen bank. Salah satu bentuk analisis yang dapat dilakukan misalnya adalah analisis penyejajaran. Analisis penyejajaran dapat digunakan untuk membandingkan dua sekuen atau lebih. Program yang digunakan untuk analisis penyejajaran yaitu program BLAST (Basic Local Alignment Search Tools). Program ini dapat diakses melalui website National Center for Biotechnology Information at The National Library of Medicine in Washington, DC (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)



Gambar 9. Berbagai metoda BLAST

Berikut merupakan langkah-langkah untuk mencari dan mendapatkan data dari genbank, misalnya untuk mencari sekuen insulin (INS)

1. Ketikkan <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> pada location bar pencarian
2. Pilih preferensi pencarian yang digunakan (pada contoh ini dipilih nucleotide) dan ketikkan juga molekul yang ingin dicari sebagai kata kunci pencarian (pada contoh ini diketikkan INS) dan diketik GO
3. Muncul berbagai pilihan sekuens yang berkaitan dengan INS dan dipilih (dengan cara mengklik kode) sekuens sesuai kebutuhan. Sekuens dengan kode awal NM menunjukkan sekuens nukleotida sedangkan NP menunjukkan sekuens protein.
4. Berdasarkan pulihan tersebut maka akan diperoleh tampilan sebagai berikut

5. Pada tampilan tersebut discroll ke bawah maka akan diperoleh tampilan berikut. Terdapat beberapa kode yaitu NM dan NP. NM menunjukkan kode untuk memperoleh informasi mengenai nukleotida, sedangkan NP menunjukkan kode untuk memperoleh informasi mengenai protein.
6. Diklik link FASTA untuk memperoleh sekuen nukleotida dari INS dalam bentuk FASTA
7. Format FASTA yang diperoleh adalah sebagai berikut.
8. Apabila diklik kode NM dan Gen Bank, maka akan diperoleh informasi mengenai sekuen nukleotida, sebagai berikut
9. Kembali pada tampilan berikut, untuk memperoleh data sekuen protein dalam bentuk FASTA maka diklik bagian NP.
10. Diperoleh sekuen asam amino dalam format FASTA Aplikasi BLAST Langkah-langkah menggunakan BLAST ditunjukkan pada alur metode berikut.
11. Klik kolom Allign two or more sequences untuk membandingkan 2 sekuen nukleotida. Kemudian dimasukkan sekuen yang ingin dibandingkan pada kolom yang telah tersedia. Sekuen yang dimasukkan harus dalam format FASTA.
12. Setelah sekuen dimasukkan diklik tanda BLAST pada bagian bawah, maka akan diperoleh tampilan sebagai berikut.
13. Pada tampilan tersebut terdapat suatu skala yang menunjukkan tingkat kesamaan sekuen yang dibandingkan. Berdasarkan hasil tampilan tersebut terdapat suatu garis berwarna merah, hal ini menunjukkan bahwa kedua sekuen tersebut memiliki urutan yang sangat mirip yaitu lebih dari 200 nukleotida.

C. SEQUENCE ANALYSIS

Primer-BLAST Software yang dikembangkan dari algoritma PRIMER3 untuk mendesain primer berdasarkan sequence yang dimasukkan. Software ini dilengkapi dengan fasilitas otomatis BLAST urutan PRIMER hasil prediksi dengan genbank untuk memperoleh primer yang spesifik. Open Reading Frame Finder (ORF Finder) Software yang diperuntukkan untuk mengidentifikasi OFR (open reading frames) atau menterjemahkan urutan DNA menjadi asam amino (gambar di bawah adalah contoh hasil analisis dengan ORF).

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) merupakan perangkat bioinformatika yang berkaitan erat dengan penggunaan basis data sekuens biologis. Penelusuran BLAST (BLAST search) pada basis data sekuens memungkinkan ilmuwan untuk mencari sekuens asam nukleat maupun protein yang mirip dengan sekuens tertentu yang dimilikinya. Hal ini berguna misalnya untuk menemukan gen sejenis pada beberapa organisme atau untuk

memeriksa keabsahan hasil sekuensing maupun untuk memeriksa fungsi gen hasil sekuensing.

Algoritma yang mendasari kerja BLAST adalah penyejajaran sekuens. PDB (Protein Data Bank) adalah basis data tunggal yang menyimpan model struktural tiga dimensi protein dan asam nukleat hasil penentuan eksperimental (dengan kristalografi sinar-X dan spektroskopi NMR). PDB menyimpan data struktur sebagai koordinat tiga dimensi yang menggambarkan posisi atom -atom dalam protein ataupun asam nukleat. b. Penyejajaran sekuens Penyejajaran sekuens (sequence alignment) adalah proses penyusunan/pengaturan dua atau lebih sekuens sehingga persamaan sekuens-sekuens tersebut tampak nyata. Hasil dari proses tersebut juga disebut sebagai sequence alignment atau alignment saja. Baris sekuens dalam suatu alignment diberi sisipan (umumnya dengan tanda "-") sedemikian rupa sehingga kolom-kolomnya memuat karakter yang identik atau sama di antara sekuens-sekuens tersebut.

Berikut adalah contoh alignment DNA dari dua sekuens pendek DNA yang berbeda, "ccatcaac" dan "caatgggcaac" (tanda "|" menunjukkan kecocokan atau match di antara kedua sekuens). ccat---caac | || ||| caatgggcaac Sequence alignment merupakan metode dasar dalam analisis sekuens. Metode ini digunakan untuk mempelajari evolusi sekuenssekuens dari leluhur yang sama (common ancestor). Ketidakcocokan (mismatch) dalam alignment diasosiasikan dengan proses mutasi, sedangkan kesenjangan (gap, tanda "-") diasosiasikan dengan proses insersi atau delesi.

Sequence alignment memberikan hipotesis atas proses evolusi yang terjadi dalam sekuens-sekuens tersebut. Misalnya, kedua sekuens dalam contoh alignment di atas bisa jadi berevolusi dari sekuens yang sama "ccatgggcaac". Dalam kaitannya dengan hal ini, alignment juga dapat menunjukkan posisi-posisi yang dipertahankan (conserved) selama evolusi dalam sekuens-sekuens protein, yang menunjukkan bahwa posisiposisi tersebut bisa jadi penting bagi struktur atau fungsi protein tersebut. Selain itu, sequence alignment juga digunakan untuk mencari sekuens yang mirip atau sama dalam basis data sekuens. BLAST adalah salah satu metode alignment yang sering digunakan dalam penelusuran basis data sekuens.

Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan Pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing *BioTechniques* 43:Sii-Sv



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 13

Topik :

Etika dalam DNA Forensik

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Judul : Etika Dalam DNA Forensik

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan pengertian etika
2. Menganalisis penerapan etika dalam uji DNA Forensik

B. Uraian

1. Pendahuluan

Laboratorium forensik sebagai bagian dari Kepolisian, khusus membantu Kepolisian Republik Indonesia dalam melaksanakan tugas-tugas penegakan hukum. Laboratorium forensik mempunyai tanggung jawab dan tugas yang sangat penting dalam membantu pembuktian untuk mengungkap segala sesuatu yang berhubungan dengan kejadian. Salah satu uji forensik yang dilakukan untuk identifikasi korban adalah uji DNA Forensik.

Uji DNA forensik pada korban kecelakaan atau korban kriminalitas mengutamakan beberapa prinsip dasar etika forensik. Etika forensik yang digunakan meliputi:

1. prinsip tidak merugikan (non maleficence)
2. prinsip berbuat baik (beneficence)
3. prinsip menghormati otonomi korban (autonomy),
4. prinsip keadilan (justice).



Gambar 1. Laboratorium DNA Forensik DVI Pusdokkes

2. Etika dalam uji DNA Forensik

a. Prinsip tidak merugikan (non maleficence)

Dalam uji DNA Forensik seorang ahli forensik harus berpegang pada prinsip tidak merugikan berbagai pihak lain yaitu korban dan keluarga korban. Pengambilan sampel DNA sebagai upaya identifikasi menggunakan sampel seefektif mungkin yang tidak menyakiti korban meskipun korban telah meninggal untuk menghormati jenazah. Dalam pengambilan sampel pada korban yang telah meninggal tidak boleh mengambil sampel secara berlebihan, jika memungkinkan pengambilan sampel darah atau cairan lainnya, sehingga tidak menyakiti atau merusak jaringan jenazah korban.

Pengambilan sampel untuk uji DNA ini harus dilakukan seefektif mungkin dan senantiasa dijaga kualitas sampelnya sehingga pengambilan sampel tidak dilakukan berkali-kali. Diupayakan agar pengambilan sampel cukup dilakukan satu kali saja, sehingga tidak merugikan dan menyakiti korban atau keluarga korban. Saat pengambilan sampel darah pada korban atau keluarga korban dilakukan oleh seseorang yang mampu dan terbiasa melakukannya.

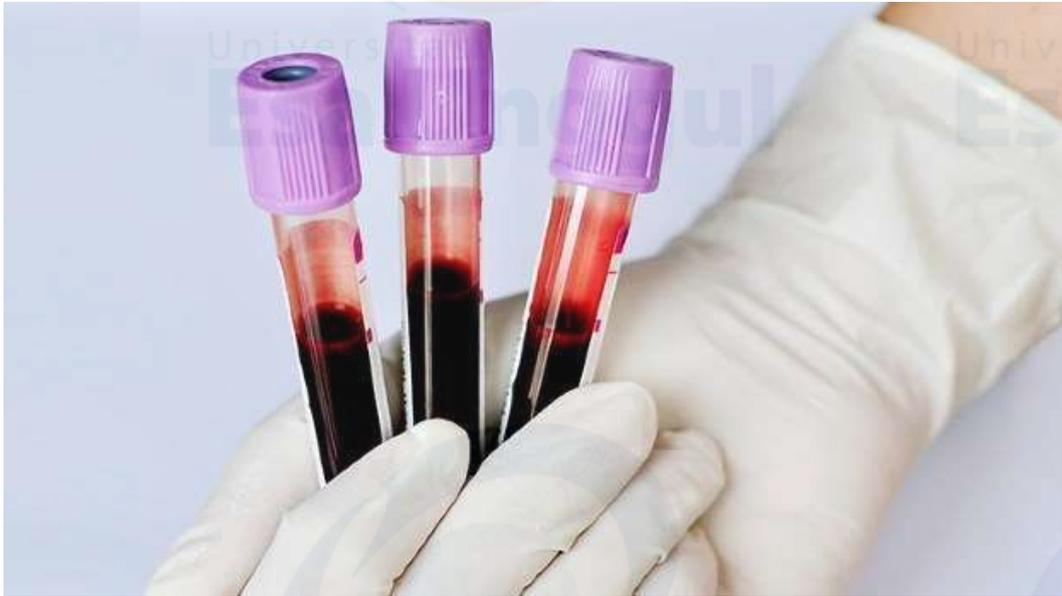


Gambar 2. Pengambilan sampel darah korban dan keluarga korban

b. Prinsip berbuat baik (beneficence)

Prinsip berbuat baik dalam pengambilan sampel DNA merupakan prinsip yang harus dilakukan oleh ahli forensik di TKP. Pada peristiwa kejahatan atau criminal, para pelaku kejahatan atau keluarga pelaku kejahatan tetap diperlakukan

dengan baik dan tetap dihormati sebagai seorang pasien yang harus diambil sampelnya untuk identifikasi DNA.



Gambar 3. Sampel darah korban dan keluarga korban yang harus dijaga kualitasnya

c. Prinsip menghormati otonomi pasien (autonomy)

Prinsip menghormati otonomi pasien merupakan suatu kebebasan bertindak dimana seseorang mengambil keputusan sesuai dengan rencana yang ditentukannya sendiri. Di sini terdapat 2 unsur yaitu : kemampuan untuk mengambil keputusan tentang suatu rencana tertentu dan kemampuan mewujudkan rencananya menjadi kenyataan. Saat seorang korban atau keluarga korban berkeberatan untuk pengambilan sampel darah, maka hargailah, maka dapat dilakukan sampel lainnya seperti sampel rambut, sampel cairan air liur yang membuat para korban atau keluarga korban merasa nyaman.



Gambar 4. Pengambilan sampel DNA dari rambut

d. Prinsip keadilan (justice)

Dalam proses uji DNA didasari dengan prinsip keadilan. Dalam penanganan uji DNA forensic kasus criminal, maka data harus dilaporkan dengan prinsip keadilan, tidak memandang jabatan atau kekayaan. Laporan harus lengkap sesuai dengan hasil yang diperoleh.

3. Prosedur medikolegal

Proses uji DNA Forensik tidak terlepas dari prinsip kedokteran dan sesuai dengan prosedur medicolegal yaitu tata cara atau prosedur penatalaksanaan dan berbagai aspek yang berkaitan pelayanan kedokteran untuk kepentingan hukum. Secara garis besar prosedur medikolegal mengacu kepada peraturan perundang-undangan yang berlaku di Indonesia, dan pada beberapa bidang juga mengacu kepada sumpah dokter dan etika kedokteran.

Aspek Medikolegal dalam praktik kedokteran Forensik Dokter diwajibkan memahami dan menerima tanggung jawab hukum berkaitan dengan :

- a. Hak asasi manusia
- b. Penyalahgunaan tindakan fisik dan seksua
- c. Kode Etik Kedokteran Indonesia# Pembuatan surat keterangan sehat, sakit, Visum et Repertum atau surat kematian
- d. Proses di pengadilan, dokter berperan memberikan keterangan ahli, sebagai saksi ahli pemeriksa, menjelaskan visum et repertum,

menjelaskan kaitan temuan VeR dengan temuan ilmiah alat bukti sah lainnya. Dokter juga berperan menjelaskan segala sesuatu yang belum jelas dari sisi ilmiah.

Etika medikolegal dibidang kedokteran forensik dipandang dari sudut hukum pidana dan hukum kesehatan. Dalam sudut pandang hukum pidana penyidik yang menangani kasus harus punya kompetensidari tingkat atas maupun bawah berdasarkan UU No. 2 Tahun 2002. Dan secara operasional berdasarkan UU No. 8 Tahun 1981.

Dasar hukum dalam operasional masing-masing diatur dalam KUHAP UU No. 8 Tahun 1981 meliputi diantaranya:

- a. Kasus hidup maupun mati berorientasi pada pasal 133 KUHAP tentang permintaan keterangan-keterangan ahli secara tertulis, pengiriman korban dan barang bukti, baik yang mati maupun hidup. Proses operasional yang harus diperhatikan terutama untuk kasus mati, karena untuk kasus hidup, pasien dapat datang sendiri dengan pelaporan ke kepolisian yang menyusul kemudian.
- b. Pasal 133 KUHAP tentang pengiriman untuk korban mati harus berlabel dan memuat identitas mayat disegel, dan diberi cap jabatan pada ibu jari kaki atau bagian lain dibadan mayat, sedangkan untuk kasus hidup tidak perlu. Ruang lingkup prosedur medikolegal adalah pengadaaan visum et repertum, pemberian keterangan ahli pada masa sebelum persidangan dan pemberian keterangan ahli di dalam persidangan, kaitan visum et repertum dengan rahasia kedokteran, penerbitan surat kematian dan surat keterangan medik, pemeriksaan kedokteran terhadap tersangka (psikiatri forensik), dan kompetensi pasien untuk menghadapi pemeriksaan penyidik. Penjelasan pasal 133 KUHAP menerangkan bahwa keterangan yang diberikan ahli kedokteran kehakiman disebut keterangan ahli, sedangkan keterangan yang diberikan oleh dokter bukan ahli kedokteran kehakiman disebut keterangan.
- c. Pasal 134 KUHAP tentang informed consent yang hidup/mati dipandang dari sudut hukum pidana. Yang wajib memberikan penjelasan mengenai tujuan dan maksud kepada keluarga korban adalah penyidik yang berwenang. Dalam pasal 134 KUHAP juga disebutkan apabila dalam dua hari tidak ada tanggapan apapun dari keluarga terhadap pihak yang perlu diberitahu tidak diketemukan, pasal 133 KUHAP ayat 3 dapat dijalankan.



Gambar 5. Informed consent yang harus diisi oleh korban hidup atau keluarga korban sebelum dilakukan uji DNA forensik

- d. Pasal 136 KUHP mengatur tentang biaya kasus hidup atau mati yang ditanggung oleh negara demi kepentingan penyidikan perkara pidana.
- e. Pada kasus Korban mati yang telah dimakamkan memiliki dasar hukum dilakukannya exhumasi terhadap pasal 135 KUHP. *Etika Medico Legal Dalam Pelayanan Kasus Kedokteran Forensik* korban meninggal, dan sebagai informasi dan pemakaman yang kadang-kadang menjadi alat bukti hukum. Informasi kematian diserahkan kepada RT, RW, atau pihak kecamatan untuk pemakaman dan untuk pembuatan akte kematian. Informasi kematian ke mass media harus berupa fotokopi surat kematian (tidak diperbolehkan menyebarkan berita kematian tanpa surat bukti kematian yang sah). Informasi kematian harus obyektif dan dilampirkan barang-barang milik korban saat diperiksa disertai laporan medis sementara setelah pemeriksaan selesai dilakukan. Laporan medis sementara untuk dilaporkan kepada polisi tercantum dalam BAP yang dibuat oleh penyidik kepada keluarga, sehingga tim medis menyerahkan kepada penyidik, kemudian penyidik menyerahkan kepada keluarga. Saksi ahli kedokteran forensik adalah saksi ahli yang betul-betul memeriksa korban/barang bukti/pasien. Bila bukan demikian maka disebut saksi biasa.



Gambar 6. Pemakaman korban yang telah dinyatakan meninggal oleh dokter forensic

Saksi ahli memiliki dua dasar hukum, yaitu :

- a. Pasal 120 KUHAP yang berarti didepan penyidik, saksi ahli tidak disumpah, namun berpegangan pada sumpah jabatan dan keilmuannya. Yang diminta oleh penyidik dijawab oleh dokter dan dibuatkan berita acaranya.
- b. Pasal 186 KUHAP yang berarti didepan pengadilan, saksi ahli disumpah oleh hakim.



Gambar 7. Sumpah saksi ahli dokter forensic oleh hakim

Pelayanan Kedokteran Forensik dalam sudut pandang kesehatan, yang menjadi alat bukti pidana dalam bentuk surat ialah :

1. BAP
2. Surat kematian
3. Rekam medis
4. Visum et Repertum

Secara operasional, dokter yang menangani harus memiliki kompetensi sesuai keahliannya masing-masing. Dokter yang kompeten adalah dokter dari hasil pendidikan sampai lulus dan harus memiliki ijazah. Harus memiliki SIP/SIO (berdasarkan standart pelayanan kedokteran forensik dan protab dan pembuatan harus urut dan sistematis) dan surat izin tugas.

Semua pemeriksaan harus berdasarakan indikasi medik, sedangkan di forensik harus berdasarakan indikasi medis dan informed consent dari keluarga oleh penyidik. Indikasi medis meliputi: Identifikasi, Berupa pengambilan darah, penentuan tanda-tanda intravital untuk pemeriksaan PA atau toxicology dan penentuan saat kematian berdasarakan pemeriksaan thanatology atau parasitology.

Legalitas prinsip yang harus diperhatikan diantaranya adalah bahwa penyidik dalam menangani kasus korban mati harus menyaksikan, melihat, mencatat, dan memotret berbagai kasus yang ditangani penyidik (harus ikut kedalam ruang periksa atau otopsi) terutama kasus kriminal.

Secara etika atas dasar etika umum dan hukum terkait informasi dan komunikasi, tim medis yang mencari informasi berdasarakan etika umum, etika hukum dan etika profesi medis yang meliputi:

1. Keluarga pasien
2. Saksi
3. Wartawan dalam dan luar
4. Pihak penyidik

Pada proses serah terima barang bukti diperlukan berita acara pidana (BAP) terutama mencakup:

- a. Waktu (tanggal dan Jam)
- b. Identitas penyidik
- c. identitas penerima
- d. identitas barang bukti yang diserahkan

BAP diserahkan dari penyidik ke tim medis. Identitas barang/ orang yang diserahkan ada pada lampiran dan harus ditandatangani oleh penyidik dan tim

medis. Serah terima yang kedua adalah penyerahan dari tim medis kepada tim penyidik yang semula menyerahkan barang bukti.



Gambar 8. Penyerahan BAP lengkap dari penyidik kepada dokter forensic

Penyerahan jenazah disertai surat kematian formulir A, untuk menerangkan korban meninggal, dan sebagai informasi dan pemakaman yang kadang-kadang menjadi alat bukti hukum. Informasi kematian diserahkan kepada RT, RW, atau pihak kecamatan untuk pemakaman dan untuk pembuatan akte kematian. Informasi kematian ke mass media harus berupa fotokopi surat kematian (tidak diperbolehkan menyebarkan berita kematian tanpa surat bukti kematian yang sah). Informasi kematian harus obyektif dan dilampirkan barang-barang milik korban saat diperiksa disertai laporan medis sementara setelah pemeriksaan selesai dilakukan. Laporan medis sementara untuk dilaporkan kepada polisi tercantum dalam BAP yang dibuat oleh penyidik kepada keluarga, sehingga tim medis menyerahkan kepada penyidik, kemudian penyidik menyerahkan kepada keluarga.



Gambar 9. Serah terima jenazah yang telah diidentifikasi kepada keluarga korban

Saksi ahli kedokteran forensik adalah saksi ahli yang betul-betul memeriksa korban/barang bukti/pasien. Bila bukan demikian maka disebut saksi biasa. Saksi ahli memiliki dua dasar hukum, yaitu : Pasal 120 KUHP yang berarti di depan penyidik, saksi ahli tidak disumpah, namun berpegangan pada sumpah jabatan dan keilmuannya. Yang diminta oleh penyidik dijawab oleh dokter dan dibuatkan berita acaranya. Pasal 186 KUHP yang berarti di depan pengadilan, saksi ahli disumpah oleh hakim.

Ditinjau dari area komunikasi efektif di bidang kedokteran forensik, seorang lulusan dokter harus mampu:

1. Berkomunikasi efektif dengan Korban atau dengan keluarga korban

Berkomunikasi dengan korban serta anggota keluarganya, dengan cara memberi penjelasan apa tujuan dilakukan pemeriksaan, cara dan prosedur pemeriksaan, kemungkinan timbulnya rasa tidak nyaman saat dokter melakukan pemeriksaan, dan informasi lainnya sesuai etika klinis. Bersambung rasa dengan korban dan keluarganya, seorang dokter saat melakukan pemeriksaan forensik harus menunjukkan rasa simpati dengan kejadian yang menimpa korban, menunjukkan rasa empati dan dapat dipercaya. Memberikan situasi yang nyaman bagi korban dengan menjaga privasi pasien, Aktif dan mendengarkan dengan penuh perhatian dan memberi waktu yang cukup pada pasien untuk menyampaikan keluhannya dan menggali permasalahan pasien serta kronologis kejadian.



Gambar 10. Komunikasi yang efektif ahli forensic dengan keluarga korban kecelakaan Lion Air

2. Berkomunikasi dengan sejawat

Memberi informasi yang tepat kepada sejawat tentang kondisi pasien baik secara lisan, tertulis, atau elektronik pada saat yang diperlukan demi kepentingan pasien maupun ilmu kedokteran. Menulis surat rujukan dan laporan penanganan pasien dengan benar, demi kepentingan pasien maupun ilmu kedokteran. Seorang dokter umum harus merujuk korban apabila apa yang dimintakan penyidik bukan kompetensi dokter umum. Misalnya, identifikasi tulang, identifikasi gigi (odontologi), pemeriksaan DNA, dan lain-lain. Melakukan presentasi laporan kasus secara efektif dan jelas, demi kepentingan pasien maupun ilmu kedokteran.



Gambar 11. Komunikasi kedokteran forensic dalam identifikasi korban

3. Berkomunikasi dengan masyarakat

Menggunakan bahasa yang dipahami oleh masyarakat, menggali masalah kronologis kejadian menurut persepsi masyarakat. Menggunakan teknik komunikasi langsung yang efektif agar masyarakat memahami bahwa pemeriksaan forensik demi penegakan keadilan sebagai hak asasi manusia. Melibatkan tokoh masyarakat dalam mempromosikan kesehatan secara professional.



Gambar 12. Komunikasi efektif tim forensik dengan masyarakat tentang perkembangan forensik

4. Berkomunikasi dengan profesi lain

Mendengarkan dengan penuh perhatian, dan memberi waktu cukup kepada profesi lain untuk menyampaikan pendapatnya. Memberi informasi yang tepat waktu dan sesuai kondisi yang sebenarnya ke perusahaan jasa asuransi kesehatan untuk pemrosesan klaim demi kepentingan hukum. Memberikan informasi yang relevan kepada penegak hukum atau sebagai saksi ahli di pengadilan (jika diperlukan), termasuk pembuatan visum et repertum atas permintaan penyidik, pemeriksaan korban mati mendadak, tanda-tanda kematian dan lain sebagainya. Melakukan negosiasi dengan pihak terkait dalam rangka pemecahan masalah yang harus dipecahkan secara hukum.



Gambar 13. Komunikasi ahli forensic dengan para penegak hukum di pengadilan

Di dalam praktik kedokteran seorang dokter mempunyai kewajiban antara lain:

- a. Berperilaku profesional dan mendukung kebijakan kesehatan
- b. Bermoral dan beretika serta memahami isu-isu etik maupun aspek medikolegal dalam praktik kedokteran
- c. Menerapkan program keselamatan pasien/korban.

Ditinjau dari segi etika, moral, medikolegal, dan Professionalisme serta keselamatan pasien/korban seorang lulusan Dokter diharapkan mampu:

- a. Memiliki Sikap profesional Menunjukkan sikap yang sesuai dengan Kode Etik Dokter Indonesia.
- b. Menjaga kerahasiaan dan kepercayaan pasien.
- c. Menunjukkan kepercayaan dan saling menghormati dalam hubungan dokter pasien.
- d. Menunjukkan rasa empati dengan pendekatan yang menyeluruh.
- e. Mempertimbangkan masalah pembiayaan dan hambatan lain dalam memberikan pelayanan kesehatan serta dampaknya.
- f. Mempertimbangkan aspek etis dalam penanganan pasien sesuai standar profesi.
- g. Mengenal alternatif dalam menghadapi pilihan etik yang sulit.
- h. Menganalisis secara sistematis dan mempertahankan pilihan etik dalam pemeriksaan/pengobatan setiap individu pasien/korban.
- i. Berperilaku profesional dalam bekerja sama

- j. Menghormati setiap orang tanpa membedakan status social.
- k. Menunjukkan pengakuan bahwa tiap individu mempunyai kontribusi dan peran yang berharga, tanpa memandang status sosial.
- l. Berperan serta dalam kegiatan yang memerlukan kerja sama dengan para petugas kesehatan lainnya.
- m. Mengenali dan berusaha menjadi penengah ketika terjadi konflik.
- n. Memberikan tanggapan secara konstruktif terhadap masukan dari orang lain.
- o. Mempertimbangkan aspek etis dan moral dalam hubungan dengan petugas kesehatan lain, serta bertindak secara professional.
- p. Mengenali dan bertindak sewajarnya saat kolega melakukan suatu tindakan yang tidak professional.
- q. Berperan sebagai anggota Tim Pelayanan Kesehatan yang Profesional dalam masalah pasien dan menerapkan nilai-nilai profesionalisme
- r. Bekerja dalam berbagai tim pelayanan kesehatan secara efektif
- s. Menghargai peran dan pendapat berbagai profesi kesehatan
- t. Berperan sebagai manager baik dalam praktik pribadi maupun dalam sistem pelayanan kesehatan.
- u. Menyadari profesi medis yang mempunyai peran di masyarakat dan dapat melakukan suatu perubahan.
- v. Mampu mengatasi perilaku yang tidak profesional dari anggota tim pelayanan kesehatan lain.
- w. Melakukan praktik kedokteran dalam masyarakat multikultural di Indonesia.
- x. Menghargai perbedaan karakter individu, gaya hidup, dan budaya dari pasien dan sejawat.
- y. Memahami heterogenitas persepsi yang berkaitan dengan usia, gender, orientasi seksual, etnis, kecacatan dan status sosial ekonomi.

Referensi

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. JBP Vol. 14, No. 2 (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing
BioTechniques 43:Sii-Sv

Lanang GD, Junita K, Suaskara IBM. 2015. Ekstraksi DNA Sperma Pada Kondom Yang Dalam Rentang Waktu Berbeda Disimpan DNA Extraction Of Sperm In Condom Stored In Different Time Scales A.A. Jurnal Biologi XVII (2) : 47 - 50



**MODUL MATA KULIAH DNA FORENSIK
(IBK 582)**

Pertemuan ke 13

Topik :

Aspek hukum dalam pemeriksaan DNA Forensik

DISUSUN OLEH :

Dr. TITTA NOVIANTI, M.Biomed.

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2022

Judul : Aspek hukum dalam pemeriksaan DNA Forensik

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan pengertian aspek hukum
2. Menganalisis aspek hukum dalam uji DNA Forensik

B. Uraian

1. Pendahuluan

Forensik merupakan cara untuk membuktikan atau mengungkap kasus untuk mendapatkan kebenaran yang sesungguhnya. Yang perlu ditekankan bahwa forensik adalah cara untuk mendapatkan alat bukti atau alat bantu untuk mendapatkan alat bukti, bukan alat bukti itu sendiri.

Dasar hukum forensik selain yang terdapat dalam undang-undang KUHP dan KUHP juga terdapat dalam Peraturan Kepala Kepolisian Negara Republik Indonesia Nomor 12 tahun 2011 tentang Kedokteran Kepolisian.

2. Peraturan KAPOLRI tentang Kedokteran Kepolisian

Peraturan Kepala Kepolisian Negara Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2011 tentang Kedokteran Kepolisian ("Perkapolri 12/2011"), yang berhubungan dengan DNA forensik antara lain :

1. **Kedokteran Forensik** adalah salah satu cabang ilmu kedokteran yang mempelajari dan menerapkan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran untuk kepentingan hukum dan peradilan.

Kegunaan Ilmu Kedokteran Forensik dibagi sebagai berikut:

- a. Menurut obyek pemeriksaan
 - Manusia hidup
 - Mayat
 - Bagian-bagian tubuh manusia
- b. Menurut bentuk jasa
 - Melakukan pemeriksaan dan mengemukakan pendapat tentang hasil pemeriksaannya (sebab luka; sebab kematian; benar tidaknya ada darah, air mani, dan sebagainya)
 - Mengemukakan pendapat saja

- Memberi penasihat tentang penyelidikan/penuntutan
- c. Menurut tempat kerja
 - rumah sakit atau laboratorium
 - tempat kejadian perkara (TKP)
 - ruang kantor atau sidang
- d. Menurut waktu pemeriksaan
 - sewaktu perkara di tangan penyidik
 - sewaktu perkara di tangan jaksa
 - di sidang pengadilan

Kemampuan Kedokteran Kepolisian dalam kegiatan Kedokteran Forensik meliputi:

- a. Olah TKP Aspek Medik;
 - b. Patologi Forensik;
 - c. Odontologi Forensik;
 - d. DNA Forensik;
 - e. Antropologi Forensik;
 - f. Forensik Klinik;
 - g. Psikiatri Forensik;
 - h. Kedokteran Lalu Lintas;
 - i. *Database Odontogram*;
 - j. *Database DNA*;
 - k. PPT;
 - l. Toksikologi Forensik;
 - m. Farmasi Forensik;
 - n. Kesehatan Tahanan;
 - o. Hukum Kesehatan; dan
 - p. Medikolegal
2. **Patologi Forensik** adalah cabang ilmu kedokteran forensik yang menerapkan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran pada pemeriksaan jenazah dan segala hal yang berhubungan dengan kematian guna kepentingan peradilan.
 3. **Odontologi Forensik** adalah salah satu cabang ilmu kedokteran gigi yang menerapkan ilmu dan teknologi kedokteran gigi untuk kepentingan hukum dan peradilan.

4. **Pemeriksaan Bidang Fisika Forensik** adalah pemeriksaan teknis kriminalistik TKP dan pemeriksaan laboratoris kriminalistik barang bukti yang menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi bidang fisika sebagai metode/instrumen utamanya.
5. **Pemeriksaan Bidang Kimia Biologi Forensik** adalah pemeriksaan teknis kriminalistik TKP dan pemeriksaan laboratoris kriminalistik barang bukti yang menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi bidang kimia dan biologi sebagai metode/instrumen utamanya
6. ***Dioxyribo Nucleic Acid Forensic (DNA Forensik)*** adalah salah satu cabang ilmu biologi yang mempelajari pemanfaatan ilmu pengetahuan dan teknologi Biomolekuler di bidang DNA untuk kepentingan identifikasi.
7. **Antropologi Forensik** adalah penerapan ilmu pengetahuan antropologi ragawi dan ilmu osteologi manusia untuk kepentingan hukum dan peradilan.
8. **Toksikologi Forensik** adalah penerapan ilmu pengetahuan tentang racun untuk kepentingan hukum dan peradilan.
9. **Psikiatri Forensik** adalah penerapan ilmu kedokteran jiwa untuk kepentingan hukum dan peradilan.
10. **Farmasi Forensik** adalah cabang dari ilmu farmasi yang mempelajari dan menerapkan ilmu pengetahuan dan teknologi kefarmasian untuk kepentingan hukum dan peradilan
11. **Pemeriksaan Bidang Dokumen dan Uang Palsu Forensik** adalah pemeriksaan teknis kriminalistik TKP dan pemeriksaan laboratoris kriminalistik barang bukti yang menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi bidang dokumen dan uang palsu sebagai metode/instrumen utamanya.
12. **Pemeriksaan Bidang Balistik dan Metalurgi Forensik** adalah pemeriksaan teknis kriminalistik TKP dan pemeriksaan laboratoris kriminalistik barang bukti yang menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi bidang balistik dan metalurgi sebagai metode/instrumen utamanya.
13. **Psikologi forensik** adalah pemahaman ilmiah bagi penegak hukum untuk memahami tingkat validasi keterangan yang didapatkan dari korban, saksi, maupun pelaku. Sebab, penegakan hukum tak bisa asal tebak hanya berdasarkan dugaan semata. Selengkapnya tentang psikologi forensik: Menelaah Kegunaan Psikologi Forensik dalam Penegakan Hukum.

3. Dasar Hukum Forensik

Dasar hukum forensik dalam Kitab Undang-Undang Hukum Pidana (“KUHP”) dan Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1981 tentang Hukum Acara Pidana (“KUHAP”). Sebenarnya tidak ada yang menyebutkan tentang forensik dalam KUHP maupun KUHAP. Yang diatur dalam KUHP adalah sehubungan dengan ahli (dalam hal ini termasuk ahli forensik).

Dalam KUHP disebutkan bahwa ahli yang menolak memberi bantuan kepada polisi bisa terancam hukuman pidana sebagaimana diatur dalam Pasal 224 dan Pasal 522 KUHP:

Pasal 224 KUHP:

Barang siapa dipanggil sebagai saksi, ahli atau juru bahasa menurut undang-undang dengan sengaja tidak memenuhi kewajiban berdasarkan undang-undang yang harus dipenuhinya, diancam:

- 1. dalam perkara pidana, dengan pidana penjara paling lama sembilan bulan;*
- 2. dalam perkara lain, dengan pidana penjara paling lama enam bulan.*

Pasal 522 KUHP:

Barang siapa menurut undang-undang dipanggil sebagai saksi, ahli atau juru bahasa, tidak datang secara melawan hukum, diancam dengan pidana denda paling banyak sembilan ratus rupiah.

Jadi, jika polisi sudah meminta bantuan, ahli forensik wajib memberikan bantuan. Kemudian, pengaturan dalam KUHAP juga tidak ada yang menyebutkan mengenai forensik. Yang diatur dalam KUHAP adalah terkait ahli kedokteran. Merujuk pada macam-macam forensik yang telah disebutkan di atas, ahli forensik dapat dikatakan sebagai ahli kedokteran. Mengenai ahli kedokteran, **Pasal 133 ayat (1) KUHAP** memberi wewenang kepada penyidik untuk mengajukan permintaan keterangan kepada ahli kedokteran kehakiman jika penyidikan menyangkut korban luka, keracunan, atau mati. Permintaan keterangan ahli ini dilakukan secara tertulis.

Jadi, dasar hukum forensik selain yang terdapat dalam KUHP dan KUHAP antara lain adalah Perkapolri 10/2009 dan Perkapolri 12/2011 sebagaimana telah diuraikan di atas.

Dasar hukum:

1. Kitab Undang-Undang Hukum Pidana;
2. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1981 tentang Hukum Acara Pidana;
3. Peraturan Kepala Kepolisian Negara Republik Indonesia Nomor 10 Tahun 2009 tentang Tata Cara dan Persyaratan Permintaan Pemeriksaan Teknis Kriminalistik Tempat Kejadian Perkara dan Laboratoris Kriminalistik Barang Bukti Kepada Laboratorium Forensik Kepolisian Negara Republik Indonesia;
4. Peraturan Kepala Kepolisian Negara Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2011 tentang Kedokteran Kepolisian.

3. Dasar hukum Uji DNA Forensik

Tes DNA memang sangat penting bagi aparat penyidik Kepolisian dalam mengungkap pelaku pembunuhan, namun ini bukanlah hal mudah. Tes DNA baru dapat dilakukan jika ada pembanding. Dua hal yang memungkinkan orang melakukan pembunuhan, termasuk di dalamnya pembunuhan yang disertai dengan kejahatan mutilasi, yaitu :

1. si pelaku khawatir dirinya akan mudah ditangkap oleh aparat penyidik Kepolisian jika meninggalkan korbannya dalam kondisi utuh. Oleh karena itu, untuk menghilangkan jejak, pelaku dengan sengaja melakukan kejahatan mutilasi dengan harapan orang lain akan sulit mencari jejak korban maupun pelaku.
2. terlalu rapatnya beberapa kasus mutilasi yang terjadi akhir-akhir ini membuat para pelaku mengadopsi semua tayangan kriminal dari televisi ataupun media lainnya. Pelaku cenderung semakin cerdas dan mudah mengambil referensi dari berbagai macam berita kriminal di media massa, baik media cetak, media audio-visual, ataupun media online.

Namun, kemungkinan terbesarnya adalah kepanikan yang luar biasa dari pelaku pembunuhan atas tindak pidana yang telah dilakukannya. Beberapa hal baru yang mempergunakan tes DNA paling mutakhir adalah bagaimana aparat Kepolisian mampu mengungkap pelaku tindak pidana pembunuhan berdasarkan kecocokan sampel DNA yang ditemukan di tempat kejadian perkara (TKP). Teknik penggunaan Tes DNA terutama sangat membantu dalam pembuktian tindak pidana, khususnya yang berkaitan dengan kekerasan, misalnya : pembunuhan, penganiayaan, perkosaan, dan tindak pidana lainnya.

Begitu pentingnya Tes DNA dalam pengungkapan pelaku pembunuhan bagi aparat penyidik Kepolisian, namun sarana dan prasarana yang ada masih belum memadai, mengingat hanya terdapat 3 (tiga) laboratorium yang dapat melayani user dalam Tes DNA, yaitu :

- 1) Puslabfor Bareskrim Mabes Polri di Jakarta Selatan,
- 2) Pusedokkes Polri di Jakarta Timur, dan
- 3) Lembaga Bio Molekuler Eijkman di Jakarta Pusat.

Kedudukan Hasil Tes DNA dalam proses peradilan pidana meliputi beberapa hal penting, antara lain : kesatu, terkait dengan identifikasi pelaku dalam proses penyidikan dan dalam pengembangan kasus. Kedua, dalam hal mengungkap pelaku tindak pidana, sehingga dari hal-hal tersebut dapat diketahui latar belakang pelaku tindak pidana melakukan tindak pidana, misalnya : mengenai latar belakang pendidikan, keluarga, hingga dapat diketahui maksud dan tujuan pelaku melakukan tindak pidana tersebut, hal ini penting karena terkait dengan proses pengusutan lebih lanjut. Begitu pula dalam proses selanjutnya, di tingkat kejaksaan sampai pada akhirnya di pengadilan, penggunaan alat bukti Hasil Tes DNA sebagai alat bukti petunjuk menjadi acuan bagi hakim.

Jadi jelas bahwa Hasil Tes DNA sebagai alat bukti petunjuk memiliki kontribusi yang besar dalam menegakkan hukum dan keadilan. Saat ini penggunaan alat bukti Hasil Tes DNA dalam proses peradilan di Indonesia hanyalah dipandang sebagai suatu alat yang dapat digunakan sebagai alat bukti yang memiliki kekuatan pembuktian sekunder, sehingga masih memerlukan dukungan alat bukti lainnya. Hasil Tes DNA sebagai suatu alat bukti yang dapat mendukung proses pengungkapan pelaku tindak pidana, termasuk dalam konteks ini adalah tindak pidana pembunuhan.



Gambar 1. Saksi ahli Forensik Kombes Pol DR Putut Tjahjo Widodo, DMF, MSi, dokter spesialis DNA Mabes Polri, dihadirkan sebagai ahli dalam perkara pembunuhan

Hingga kini pengaturan mengenai penggunaan alat bukti Hasil Tes DNA hanyalah diatur dalam Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1981 tentang Hukum Acara Pidana (KUHAP). KUHAP sebagai suatu produk hukum yang mengatur tentang pidana formil, belum secara eksplisit mengatur tentang penggunaan Hasil Tes DNA sebagai suatu alat bukti. Mengingat pembuktian dengan menggunakan Hasil Tes DNA belum diatur secara khusus dalam KUHAP, di mana Pasal 184 KUHAP hanya menentukan terdapat 5 (lima) alat bukti yang sah, antara lain : (1) Keterangan Saksi, (2) Keterangan Ahli, (3) Surat, (4) Petunjuk, dan (5) Keterangan Terdakwa, sehingga berakibat masalah legalitasnya menjadi sangat interpretative.

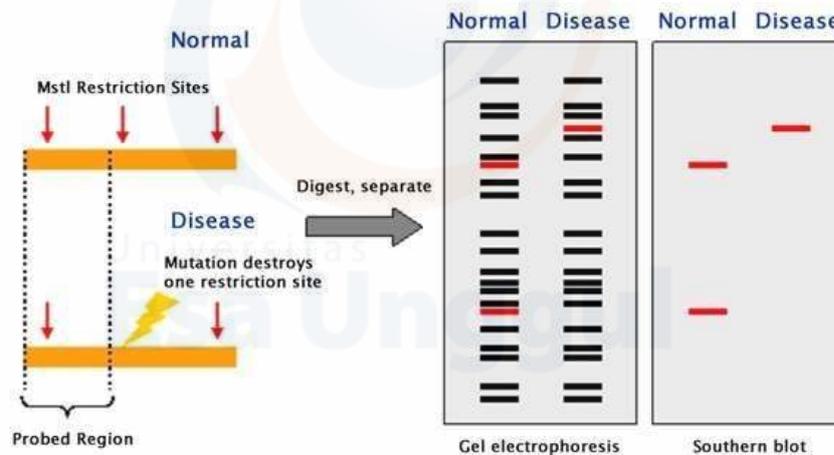


Gambar 2. Memperlihatkan alat bukti di peradilan

Namun, sebelum melangkah jauh mengenai penggunaan Hasil Tes DNA sebagai alat bukti di muka persidangan, berbagai pemikiran dan ulasan serta kerangka berpikir yang terbangun nampaknya sudah mulai mengerucut bahwa Hasil Tes DNA sebagai alat bukti sangat dekat korelasinya dengan alat bukti petunjuk.

Mekanisme Tes DNA dalam pembuktian tindak pidana dilakukan dalam beberapa langkah, yaitu :

- 1) pertama, prosedur atau mekanisme identifikasi DNA dengan cara mengisolasi DNA, di mana melalui tahapan ini dapat ditemukan struktur dan tipe DNA-nya yang selanjutnya dicocokkan dengan DNA yang terdapat pada terdakwa yang dianggap sebagai pelaku pembunuhan. Dalam tahap pertama ini pula dimungkinkan pula aparat penyidik Kepolisian menggunakan metode DNA profiling atau fingerprinting untuk melakukan identifikasi melalui sidik jari. Apabila sampel DNA yang ditemukan di TKP hanya sedikit, maka dapat diatasi dengan teknik penggandaan DNA (DNA Amplification), yang dalam ranah atau domain ilmu forensik dikenal dengan sebutan teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) atau Reaksi Rantai Polymerase.
- 2) Kedua, dengan cara memasukkan sampel DNA yang telah diperoleh dari hasil isolasi DNA ke dalam marker atau bejana yang telah diberi alat yang bernama elektroforesis dengan 2 (dua) bentuk, yaitu : tissue dan dalam bentuk gel. Proses elektroforesis inilah yang kemudian dapat mengungkapkan tipe DNA tersebut. Di samping menggunakan teknik PCR dalam melakukan amplifikasi DNA, masih terdapat metode atau teknik lain, misalnya : dengan menggunakan analisis RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) berbasis southern blotting yang berguna untuk menguji kemungkinan adanya kemiripan dan perbedaan sampel DNA dengan hanya membutuhkan sedikit sampel dalam bentuk darah atau jaringan.



Gambar 3. Teknik RFLP

Kedudukan Hasil Tes DNA dalam pembuktian tindak pidana pembunuhan memang tidak diatur secara eksplisit dalam ketentuan Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1981 tentang Hukum Acara Pidana (KUHP), sehingga berakibat masalah legalitasnya sangat interpretatif, di mana dalam konteks ini banyak kalangan pakar hukum pidana yang melakukan penafsiran berbeda antara yang satu dengan yang lain terhadap kedudukan Hasil Tes DNA dalam pembuktian tindak pidana pembunuhan.

Pemanfaatan Hasil Tes DNA dalam pembuktian tindak pidana pembunuhan merupakan suatu langkah strategis yang dapat dilakukan saat ini, mengingat keotentikan hasil Tes DNA itu sendiri sebagai alat bukti, sebagaimana diatur dalam Pasal 184 Kitab Undang-Undang Hukum Acara Pidana (KUHP) tentang alat bukti yang sah.

Ilmu kedokteran merupakan induk dari IKK yang diaplikasikan untuk kepentingan penegakan hukum. Pasal 133 ayat (1) KUHP, menentukan bahwa dokter ahli kehakiman atau dokter dan atau ahli lainnya untuk kepentingan penyidikan dan peradilan wajib memberikan keterangan ahli dalam melakukan pemeriksaan terhadap korban tindak pidana yang berada dalam keadaan terluka, keracunan atau mati. Urgensi kewajiban menempuh IKK berkait erat dengan peranan dokter sebagai saksi ahli dalam melakukan pemeriksaan terhadap manusia sebagai korban tindak pidana, baik dalam keadaan hidup maupun mati. Formulasi Pasal 133 ayat (1) KUHP, ditentukan sama dan tidak mengalami perubahan di dalam Rancangan KUHP 2013 Pasal 37 ayat (1), yang selengkapnya menentukan: "dalam hal penyidik Ilmu Kedokteran Forensik

(Interaksi dan Dependensi Hukum pada Ilmu Kedokteran) untuk kepentingan peradilan menangani korban luka, keracunan, atau mati yang diduga akibat peristiwa tindak pidana, penyidik berwenang mengajukan permintaan keterangan kepada ahli kedokteran kehakiman atau dokter dan/atau ahli lainnya”.

Formulasi Pasal 133 ayat (1) KUHAP tidak menyebutkan tentang pemeriksaan kedokteran kehakiman terhadap korban kejahatan kesusilaan. Tidak disebutkannya urgensi pemeriksaan kedokteran forensik terhadap korban tindak pidana kesusilaan sebenarnya dapat dilengkapi di dalam Rancangan KUHAP, namun demikian ternyata tim panitia perumusan Rancangan KUHAP tidak melengkapinya, apakah ini diserahkan dalam praktek di lapangan seperti yang sudah berjalan selama ini?

Hukum pidana Indonesia menentukan, atas dasar permintaan penyidik memberikan beban kewajiban bagi setiap dokter dalam kapasitasnya sebagai ahli untuk memeriksa setiap orang yang luka atau mati yang diduga sebagai korban tindak pidana. Pasal 216 KUHP mengancam sanksi pidana penjara paling lama empat bulan dua minggu apabila dokter atas permintaan penyidik, menolak melakukan pemeriksaan kedokteran forensik. Oleh karena itu, merupakan salah satu pertimbangan pentingnya setiap mahasiswa kedokteran menerima mata kuliah IKK dari aspek hukum.

Dalam perkembangannya ilmu kedokteran berhubungan dengan ilmu hukum telah melahirkan ilmu yang relatif baru jika dibandingkan dengan IKK, yaitu Hukum Kesehatan dan Hukum Kedokteran. IKK, Hukum Kesehatan dan Hukum Kedokteran merupakan ilmu yang objeknya sama, yaitu bertemu pada satu titik sentuh di bidang kesehatan dan kedokteran yang berhubungan dengan hukum. Namun demikian, IKK merupakan ilmu kedokteran yang penerapannya dalam rangka untuk penegakan hukum (*medicine for law*); sedangkan pada Hukum Kesehatan/Hukum Kedokteran merupakan hukum yang mengatur tentang aspek pelayanan kesehatan (*law for medicine*).

Perbedaan antara ketiga ilmu tersebut, adalah sebagai berikut: Ilmu Kedokteran Forensik (Interaksi dan Dependensi Hukum pada Ilmu Kedokteran) Ilmu Kedokteran Forensik (Interaksi dan Dependensi Hukum pada Ilmu Kedokteran) 1. Hukum Kesehatan, adalah seperangkat kaidah yang mengatur seluruh aspek yang berkaitan dengan upaya dan pemeliharaan di bidang kesehatan. UU No. 36 Th 2009 tentang Kesehatan Bab 1 tentang Ketentuan Umum Pasal 1 angka 1, menentukan kesehatan adalah keadaan sehat, baik

secara fisik, mental, spiritual maupun sosial yang memungkinkan setiap orang untuk hidup produktif secara sosial dan ekonomis.”

Apabila merujuk pada ketentuan UU No. 36 Th 2009, maka aspek kesehatan yang berhubungan dengan hukum kesehatan memiliki implikasi yang luas, yang tidak hanya terbatas pada kesehatan fisik, mental maupun spiritual, namun terkait juga dengan aspek kesehatan sosial. Oleh karena itu, ruang lingkup konsentrasi hukum kesehatan meliputi seluruh aspek yang berkaitan dengan kesehatan manusia, yaitu kesehatan badaniah, kesehatan rohaniah dan kesehatan sosial secara keseluruhan.

Hukum Kedokteran, adalah bagian dari hukum kesehatan yang menyangkut pelayanan kesehatan secara individu (kesehatan individu). Apabila mengacu pada UU No. 29 Tahun 2004 Tentang Praktik Kedokteran Pasal 1 angka 1, bahwa praktik kedokteran adalah rangkaian kegiatan yang dilakukan oleh dokter dan dokter gigi terhadap pasien dalam melaksanakan upaya kesehatan, oleh karena itu, konsentrasi studi hukum kedokteran terkait erat dengan praktik profesi kedokteran, baik dokter maupun dokter gigi, antara lain, meliputi hak dan kewajiban pasien serta dokter, ijin tindakan medis, malpraktek medis, dsb.

IKK adalah ilmu kedokteran yang digunakan dan diperbantukan untuk kepentingan penegakan hukum, khususnya dalam menemukan kebenaran materiil dalam perkara hukum, baik hukum pidana maupun hukum perdata. Dalam praktik di lapangan sebagai gambaran dari aplikasi disiplin ilmu, Hukum Kesehatan, Hukum Kedokteran maupun IKK memiliki perbedaan prinsip, sehingga dalam pelaksanaannya tidak berbenturan kepentingan antara bidang ilmu yang satu dengan lainnya. Misalnya, dalam kasus penanganan terhadap orang yang terluka berat karena penganiayaan. Penanganan kasus akan berhubungan antara penerapan Hukum Kesehatan dan/atau Hukum Kedokteran dengan IKK.

Pada penerapan Hukum Kesehatan dan/ atau Hukum Kedokteran, adalah upaya yang dapat dilakukan oleh dokter untuk menyelamatkan orang yang dalam keadaan terluka berat; sedangkan pada penerapan pemeriksaan kedokteran forensik, dokter bertugas memeriksa adanya kondisi luka-luka berat, kemudian melukiskan keadaan luka-luka pada saat dilakukannya pemeriksaan, termasuk akibat adanya perlukaan tersebut, dan kemudian dokter bertugas menyimpulkan hasil pemeriksaannya yang dibuat secara tertulis atau disebut visum et repertum.

Penanganan Tempat Kejadian Perkara adalah tindakan penyelidikan atau penyidik yang dilakukan di tempat kejadian perkara yang menyelenggarakan

kegiatan dan tindakan kepolisian yang dilakukan di tempat kejadian perkara. Tindakan kepolisian tersebut terdiri dari : a. Tindakan Pertama di TKP (TP-TKP) ; b. Pengolahan TKP (Crime Scene Processing).

Tindakan Pertama di Tempat Kejadian Perkara adalah tindakan kepolisian yang harus dilakukan segera setelah terjadinya tindakan pidana untuk melakukan pertolongan/perlindungan kepada korban/anggota masyarakat serta penutupan dan pengamanan Tempat Kejadian Perkara guna persiapan penyidikan selanjutnya. Tindakan ini dimaksudkan agar TKP tetap dalam keadaan 'status quo', sehingga tindakan pertolongan/perlindungan terhadap korban/anggota masyarakat jangan sampai merusak TKP dan barang bukti yang ada di dalam TKP. Harus dibedakan bahwa tindakan utama dari petugas di TP-TKP adalah hanya mengamankan TKP agar tetap dalam kondisi status quo dan tidak melakukan Olah TKP.

Pengolahan Tempat Kejadian Perkara adalah tindakan atau kegiatan setelah tindakan pertama di tempat kejadian perkara dilakukan dengan maksud untuk mencari, mengumpulkan, mendokumentasikan, menganalisa, mengevaluasi petunjuk-petunjuk, keterangan dan bukti serta identitas tersangka menurut teori 'pembuktian segitiga' guna memberikan arah penyidikan selanjutnya. Dasar Teori Bukti Segi Tiga Pada suatu tempat kejadian perkara (TKP) unsur Korban (K), Pelaku (P) dan Alat (A) yang dipakai melakukan kejahatan bertemu sehingga terjadi kontak satu dengan yang lainnya dan mengakibatkan adanya perpindahan material dari unsur (K)(P)(A) satu dengan yang lainnya serta dari dan ke TKP.

Olah TKP dilakukan oleh petugas yang mengerti tentang bagaimana melakukan olah TKP. Petugas Olah TKP harus diberikan perlindungan dan kebebasan dalam melakukan Olah TKP berdasarkan prinsip-prinsip ilmu forensik. Petugas Olah TKP idealnya terdiri dari Dokpol untuk barang bukti biologis, Ident untuk dokumentasi, sidik jari, sketsa TKP dan Labfor untuk barang bukti fisik. Manajer TKP adalah petugas yang memimpin baik TP-TKP dan atau Olah TKP yang umumnya mengatur bagaimana prosedur di TKP dilakukan namun tidak melakukan Olah TKP. Seorang manajer TKP akan mengetahui segala BUKTI SEGI TIGA ALAT KEJAHATAN/ BARANG BUKTI T K P P E L A K U K O R B A N sesuatu yang terjadi di TKP berdasarkan laporan dari orang-orang yang terlibat di TKP.

Seorang dokter ahli forensik dapat dimintakan untuk melakukan Olah TKP dari aspek medik forensiknya. Keterangan yang disampaikan oleh dokter ahli forensik tersebut setelah melakukan Olah TKP aspek Medik Forensik dapat memberikan petunjuk yang penting seperti jenis kematiannya, perkiraan berapa lama kematiannya, perkiraan cara kematian dan mekanisme kematiannya dan hal-hal lain yang terkait dengan keilmuannya.

Penanganan Barang Bukti Kedokteran Forensik Penangan barang bukti kedokteran forensik guna pemeriksaan lanjutan dan atau pemeriksaan DNA memperhatikan hal-hal sebagai berikut :

- a. Barang bukti kedokteran forensik berupa : 1) Darah 2) Liur 3) Sperma 4) Rambut dengan akar rambut 5) Gigi 6) Tulang 7) Kulit 8) Otot
- b. Semua yang berkaitan dengan tubuh manusia perlu dipikirkan untuk mengamankan dan merawat barang bukti dari kerusakan.
- c. untuk darah segar disimpan dalam tabung darah dengan menambahkan larutan EDTA 10% (jangan menggunakan formalin).
- d. darah, sperma dan liur disimpan dalam kassa kering dan diangin anginkan sampai kering lalu disimpan dalam amplop bukan kantong plastik.
- e. rambut dengan akarnya, gigi, tulang, kulit, otot dan semua yang berkaitan dengan tubuh manusia disimpan dalam amplop.

Referensi

Handoko Tjondroputranto dan Rukiah Handoko. Ilmu Kedokteran Forensik Fakultas Hukum Universitas Indonesia. Fakultas Hukum Universitas Indonesia. Depok: 2000/2001.

Yudianto, A. (2016). Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal, Vol. 1 No. 1 (2016).

Pertiwi, Kartika Ratna (2014). Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik. Majalah WUNY XVI No.2

Zaya DN, Ashley MV. 2012. Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol.* 2012; 862:35-52.

Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. (2012). Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode STR-PCR. *JBP Vol. 14, No. 2* (2012).

Butler, JM. 2007. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing
BioTechniques 43:Sii-Sv

Lanang GD, Junita K, Suaskara IBM. 2015. Ekstraksi DNA Sperma Pada Kondom Yang Dalam Rentang Waktu Berbeda Disimpan DNA Extraction Of Sperm In Condom Stored In Different Time Scales A.A. *Jurnal Biologi XVII (2) : 47 - 50*