

Analisis Pengaruh Waktu dan Pencucian Deterjen terhadap DNA Bercak Cairan Semen pada Locus FGA dengan Metode STR-PCR

(Analysis the influence of time and detergent washing to DNA from cement liquids spotted in FGA Locus, D21S11 and DYS19 using STR-PCR Method)

Indah Nuraini*, Soekry Erfan Kusuma**, Agung Sosiawan***

ABSTRACT

Sex abuse cases, especially by murdering or robbing from year to year have an increasingly tendency. A test which's absolutely done in some cases of sex abuse is the evidence of sperm. In some cases, cement liquids spotted were found in the condition which have been changed because of intentionally washing by detergent to DNA of cement liquids spotted or even it's not like soaked by water. It complicates the identification process and untill now, the research about the influence of washing by detergent to DNA of cement liquids spotted is not much known yet. The objective of this study was to analysis cement spot on the effect of time duration and washing by detergent to FGA LOCUS as a forensic molecular identification material. The individual identity can be commonly decided using DNA profiling which is common used to identificate is Short Tandem Repeat (STR) by using 13–20 locuses. The focus of this research is to gasp the effect of the time duration (1, 7, 30, 60, and 90 days) and washing by detergent to FGA locus, D21S11, DYS19 as a forensic molecular identification material. The result of this DNA identification showed that the influence of the time duration and washing by detergent to cement liquids spotted, longer time of action made the decreasing of DNA rate. It's showed from the result of Kruskal Wallis analysis with $p = 0.000$ ($p < 0.05$). Nevertheless, the decreasing of DNA rate in forensic sample will not much significantly influent to the successful of DNA profiling, commonly in Short Tandem Repeat (STR) test. It's happened because the DNA rate which is needed in STR and PCR tests kindly just a little (1–25 ng/ul), so that the risk of failure in amplification process is very small, with the DNA's not totally degraded as an assential. The visualization results were analyzed descriptively, by seeing the presence of the ribbons or bands based on the size of product (base pair) in each spotted of cement liquids. In this research found that even though there's DNA rate of cements spotted reduction but the result of STR-PCR of FGA Locus, D21S11 and Y chromosom in DYS19 locus still can be all positively detected.

Key words: Cement liquids spotted, the influence of detergent washing to DNA, STR-PCR

PENDAHULUAN

Identifikasi korban maupun tersangka pada kasus kriminalitas seperti pembunuhan, perkosaan dengan pembunuhan semakin hari semakin meningkat kuantitas maupun kualitasnya, menjadikan kedokteran forensik sebagai cabang ilmu kedokteran makin berperan bagi kemajuan dan pengembangan ilmu kedokteran secara keseluruhan (Sosiawan, 2007).

Salah satu pemeriksaan yang mutlak dilakukan pada peristiwa tindak pidana perkosaan tersebut ialah pembuktian adanya sperma. Barang bukti bercak cairan semen kadang-kadang ditemukan dalam keadaan telah

mengalami perubahan baik karena disengaja, seperti dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan barang bukti, maupun karena tidak disengaja, seperti terendam air. Namun sejauh ini pengaruh pencucian dengan deterjen terhadap DNA pada cairan semen belum banyak diketahui.

Nilai diagnostik positif untuk sperma ialah dengan pemeriksaan mikroskopik, sebab dengan ditemukannya spermatozoa jelas bercak tersebut dari cairan seminal (Notosoehardjo, 1993). Pemeriksaan mikroskopik tidak selalu berhasil, karena beberapa faktor antara lain : azoospermia, vasektomi, degenerasi dari sperma karena waktu dan penyimpanan yang tidak benar. Selain itu

* Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga

** Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

*** Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

pemeriksaan ini tidak sesuai untuk pemeriksaan di tempat kejadian perkara atau tes pendahuluan (**Notosoehardjo**, 1993; **Chadha**, 1995).

Untuk kepentingan ini dikembangkan bermacam-macam tes kimiawi untuk identifikasi pendahuluan pada bercak *semen* dan menurut penelitian pendahulu menunjukkan bahwa tes zink merupakan tes yang lebih spesifik, stabil, tidak terpengaruh waktu, panas, kelembaban dan pembusukan sehingga lebih tahan terhadap degradasi (**Notosoehardjo**, 1993). Tetapi kelemahan dari tes ini hanya dapat menghasilkan kesimpulan terbatas yaitu ini bukan sperma atau ini mungkin sperma dan tidak bisa mengungkapkan pelaku perkosaan yang sebenarnya.

Untuk mengungkapkan siapa pelaku perkosaan yang sebenarnya dapat dilakukan pemeriksaan *DNA profiling*. *DNA profiling* sangat dipercaya dapat mengidentifikasi seseorang oleh karena tidak ada dua manusia yang mempunyai urutan DNA yang tepat sama (**Dwiyono**, 2008). DNA merupakan alat identifikasi yang dapat diandalkan dengan berbagai keuntungan, antara lain DNA lebih sensitif, akurat dan stabil, sehingga masih memungkinkan digunakan pada bahan yang sudah membusuk dan terdegradasi. Selain itu distribusi DNA sangat luas meliputi seluruh tubuh, sehingga berbagai bahan dapat digunakan sebagai bahan pemeriksaan.

Dengan ditemukannya metode PCR, membuka lebih banyak kemungkinan bagi pemeriksaan DNA. Dengan metode ini bahan sampel yang amat minim jumlahnya tidak lagi menjadi masalah, karena DNANYA dapat diperbanyak jutaan sampai milyaran kali lipat di dalam mesin yang dinamakan mesin PCR atau *thermocycler* (**Kusuma**, 2007). Pada kasus perkosaan ditemukannya pita-pita DNA dari benda bukti atau korban yang ternyata identik dengan pita-pita DNA tersangka menunjukkan bahwa tersangkalah yang menjadi "donor" sperma tadi. Adanya kemungkinan percampuran antara sperma pelaku dan cairan vagina tidak menjadi masalah, karena pada proses kedua jenis DNA ini dapat dipisahkan satu sama lain.

DNA profiling yang banyak dimanfaatkan sebagai identitas individu ialah *Short Tandem Repeat* (STR). STR merupakan suatu daerah yang tidak mengkode yang terdapat pada DNA inti dan terdiri dari 2–7 urutan nukleotida yang tersusun berulang secara tandem. Setiap lokus STR memiliki polimorfisme yang berupa perbedaan jumlah pengulangan pada alel pasangannya dan dengan menggunakan 13–20 lokus STR identitas seseorang dapat ditentukan. Ukuran fragmen STR biasanya tidak lebih dari 500 pb, oleh karena itu STR dapat diamplifikasi dengan menggunakan jumlah DNA templat yang relatif sedikit

(~1 ng) dan juga dapat digunakan untuk menganalisis sampel DNA yang sudah terdegradasi.

Fokus penelitian ini adalah ingin mengungkap efek waktu dan perlakuan pencucian dengan menggunakan deterjen terhadap kemampuan DNA dari bercak cairan *semen* sebagai bahan identifikasi pemeriksaan molekuler forensik. Deterjen yang digunakan adalah deterjen serbuk, karena mudah didapatkan dan murah serta relatif cepat cara kerjanya, sehingga sering digunakan dalam menghilangkan jejak barang bukti. Alasan pemilihan lokus FGA adalah lokus yang direkomendasikan *Federal Bureau Investigation* (FBI) dan kedua lokus ini memiliki diskriminasi tertinggi di populasi Indonesia (**Untoro et al.**, 2009).

Waktu yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah 1, 7, 30, 60, 90 hari dengan alasan sesuai dengan penelitian terdahulu (**Notosoehardjo**, 1993; **Yudianto**, 2007) yaitu 1 dan 7 hari berdasarkan ketahanan sperma pada suhu ruang, 30 hari merupakan maksimal lama penahanan pada proses penyidikan, sedangkan 60 dan 90 hari merupakan maksimal setelah proses penuntutan.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu memecahkan berbagai kasus forensik yang melibatkan pemeriksaan DNA forensik dengan spesimen yang terdegradasi, terutama pada sampel yang berasal dari bercak cairan *semen*. Hal ini penting dilakukan, mengingat untuk mengatasi kendala dimana di tempat kejadian perkara ditemukan barang bukti bercak cairan *semen* yang kadang-kadang ditemukan dalam keadaan telah dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan barang bukti. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis materi bercak semen atas pengaruh waktu dan pencucian dengan deterjen terhadap FGA lokus sebagai sampel.

MATERI DAN METODE

Sampel dari penelitian ini adalah DNA inti yang terdapat pada bercak cairan *semen* yang mengandung cairan seminal dan sel spermatozoa yang diambil dari poli andrologi RSUD Dr. Sutomo Surabaya. Kriteria sampel diambil dari sperma pria dengan hasil analisis sperma normal.

Ekstraksi DNA dari bercak cairan semen. DNA bercak cairan semen diekstraksi dengan metode DNAzol. Bercak cairan semen dilarutkan dengan aquadest 5 cc dalam tabung centrifuss 15 cc, diinkubasi selama 1 jam dan dicentrifuss 12.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, pellet dicampur dengan DNAZOL sebanyak 1 cc, vortex dengan segera dan diinkubasi selama 15 menit. Setelah inkubasi pada tabung tersebut ditambahkan

Chloroform 0,2 cc, vortex dan diinkubasi lagi selama 15 menit. Dicentrifuss 8000 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil dengan hati-hati dan dimasukkan dalam tabung eppendorf baru, ditambahkan isopropanol 0,5 cc, inkubasi selama 5 menit, kemudian bolak-balik dengan pelan. Centrifuss 12.000 rpm selama 10 menit dan supernatan dibuang, kemudian pellet dicuci dengan ethanol 70% sebanyak 0,5 cc. Centrifuss 12.000 rpm selama 5 menit dan Pellet dikeringkan dengan cara tabung terbuka selama 5-15 detik sesudah ethanol 70% dibuang. Tahapan terakhir pellet ditambah nuclease free water sebanyak 50 ul sebagai pelarut DNA, divortex dan disimpan pada suhu -20° C.

Metode PCR STR Pada Lokus FGA. Primer yang digunakan untuk amplifikasi adalah:

FGA (Promega primer, Gen Bank Accession M64982):

5'-GGCTGCAGGGCATAACATTA-3'

5'-ATTCTACGATTTGCGCTTCAGGA-3'

Tahap amplifikasi dilakukan dengan menggunakan alat *DNA Thermal Cycler* Perkin Elmer 2400 yang diprogram dengan kondisi :

Program untuk lokus FGA:

Initial denaturasi : 96° C 2 menit

Denaturasi : 90° C 1 menit

Annealing : 60° C 1 menit

Extension : 70° C 30 detik

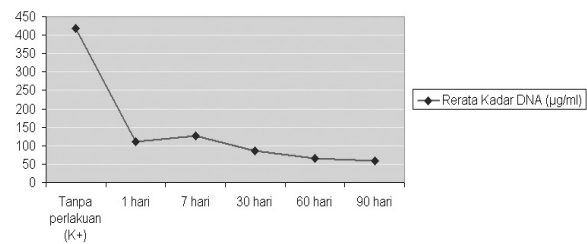
Selama 25 cycle (**Promega corp**, 2001)

Hasil PCR dianalisa dengan cara elektroforesis pada gel polyacrilamid gel. Hasil elektroforesis dianalisis secara deskriptif, yakni dengan melihat ada tidaknya gambaran pita atau band pada base pair tertentu, dengan panjang sesuai dan menempati posisi nukleotida yang dikehendaki, dibandingkan dengan kontrol.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil pengukuran kadar dan kemurnian DNA

Hasil pengukuran kemurnian dan rerata kadar DNA dengan menggunakan *UV-Visible Spectrophotometer* dan dapat dinyatakan bahwa semakin lama waktu perlakuan yang diberikan pada bercak cairan semen, maka terdapat kecenderungan kadar DNA yang terdapat pada bercak cairan semen semakin menurun. Untuk memperjelas hal tersebut, maka dapat dilihat pergerakan penurunan kadar DNA pada grafik berikut ini:



Gambar 1. Pengaruh waktu dan pencucian detergen terhadap kadar DNA bercak cairan semen.

Dari grafik terlihat dengan jelas adanya pengaruh waktu dan pencucian detergen terhadap kadar DNA bercak cairan semen. Untuk dapat memastikan apakah terdapat pengaruh tersebut pada kadar DNA bercak cairan semen, maka dilakukan uji statistik yaitu uji *one way anova*.

Hasil Analisis Data Kuantitatif

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah data mengikuti sebaran normal atau tidak secara analitis. Uji normalitas dapat dilakukan dengan metode *Shapiro Wilk* karena sampel sedikit (kurang atau sama dengan dari 50). Jika uji normalitas data yang dihasilkan berdistribusi normal, maka dilanjutkan ke uji parametrik yaitu *One Way Anova*.

Tabel 1. Hasil uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk*

	Waktu paparan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Kadar DNA	0 bulan	.953	5	.758
	1 hari	.910	5	.470
	7 hari	.913	5	.485
	30 hari	.961	5	.841
	60 hari	.871	5	.269
	90 hari	.872	5	.275

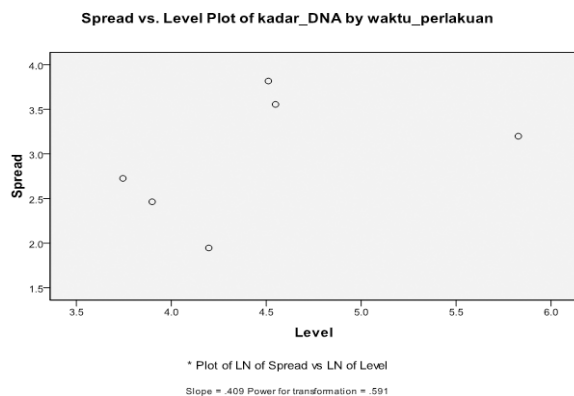
a. Lilliefors Significance Correction

Tabel di atas menunjukkan bahwa seluruh data diperoleh nilai $p > 0,05$, sehingga distribusi data dinyatakan normal. Untuk dapat menguji apakah terdapat pengaruh waktu dalam 1, 7, 30, 60, 90 hari dan pencucian detergen terhadap DNA bercak cairan semen dilakukan uji *One Way Anova*. Sebelum dilakukan pengujian tersebut, maka ditentukan perhitungan homogenitas dengan menggunakan uji *Levene's test*.

Tabel Hasil uji homogenitas varian data Kadar DNA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.154	5	24	.007

Tabel di atas menunjukkan *significancy test homogeneity of variance* 0,007 ($p < 0,05$), sehingga diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya varians menjadi sama.



Gambar 2. Hasil nilai *slope* dan *power* untuk menentukan jenis transformasi.

Tabel 2. Hasil uji homogenitas varian data dengan transformasi *square root*

trn_kadar DNA			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.545	5	24	.015

Pada uji F, diperoleh nilai $p = 0,015$. Karena nilai $p < 0,05$ maka dapat diambil kesimpulan bahwa “varians data tidak sama”, sehingga syarat dari uji F tidak terpenuhi. Sebagai alternatif dipilih uji *Kruskal Wallis*.

Tabel 3. Hasil uji *Kruskal Wallis*

Ranks			
	Waktu perlakuan	N	Mean Rank
Kadar DNA	0	5	28.00
	1	5	18.40
	7	5	20.70
	30	5	14.10
	60	5	7.30
	90	5	4.50
Total		30	

Tabel 4. Test Statistics^{a,b}

Kadar DNA	
Chi Square	24.672
df Asymp.	5
Sig.	.000

Dengan uji *Kruskal Wallis*, diperoleh nilai $p = 0,000$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa “paling tidak terdapat perbedaan kadar DNA yang bermakna pada dua waktu perlakuan”.

Untuk mengetahui pada waktu berapakah terdapat perbedaan pengaruh perlakuan terhadap kadar DNA bercak cairan semen, maka langkah selanjutnya adalah melakukan uji statistik lebih lanjut dengan menggunakan analisis *Post Hoc*.

Tabel 5. Hasil analisis *Post Hoc* dengan uji *Mann Whitney*

Waktu Perlakuan	Mean $\pm$ SD
0 hari	13,65 ^a $\pm$
1 hari	20,5 ^a $\pm$
7 hari	24,67 ^a $\pm$
30 hari	3,99 ^b $\pm$
60 hari	6,77 ^b $\pm$
90 hari	8,21 ^b $\pm$

Rotasi huruf a dan b dalam satu kolom adalah berbeda nyata $p < 0,05$

Hasil uji di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar DNA yang berbeda secara bermakna pada semua waktu perlakuan kecuali pada waktu perlakuan 1 hari dengan 7 hari, 1 hari dengan 30 hari dan 60 hari dengan 90 hari.

Pengaruh waktu dan pencucian detergen terhadap DNA bercak cairan semen pada lokus FGA

Untuk mengetahui pengaruh waktu dan pencucian detergen terhadap DNA bercak cairan semen pada deteksi DNA lokus FGA, dilakukan pemeriksaan *Short Tandem Repeat (STR) PCR* pada lokus FGA. Hasil pemeriksaan deteksi dapat dilihat pada *Tabel 6*.

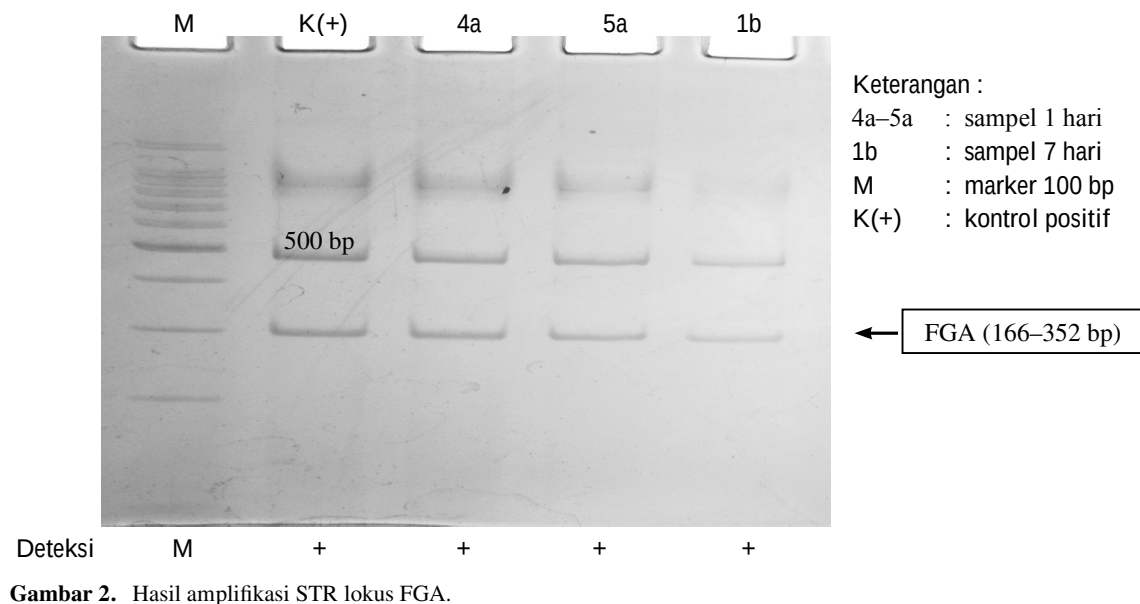
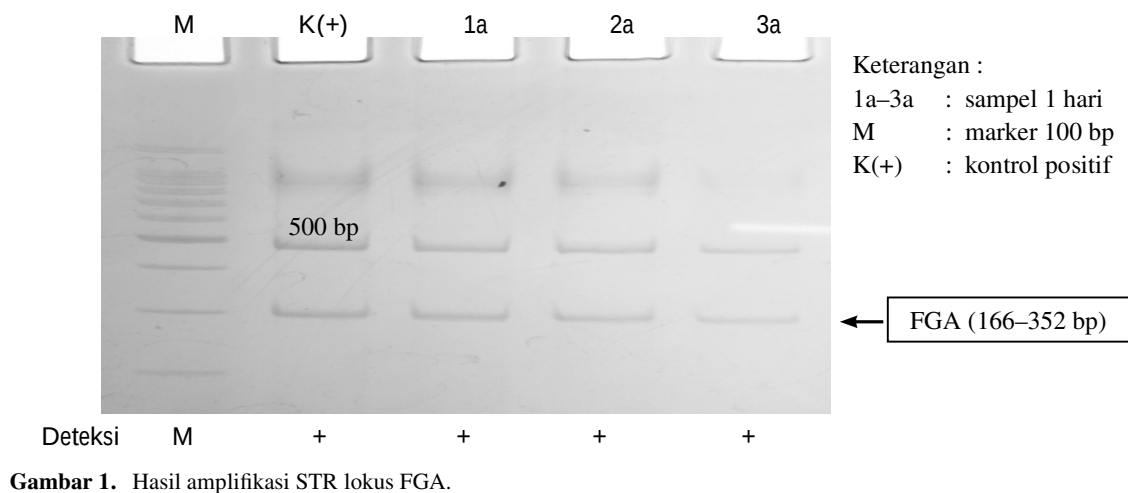
Tabel diatas menunjukkan bahwa pengaruh waktu dan pencucian detergen pada 1 hari sampai dengan 90 hari, seluruh sampel DNA bercak cairan semen masih dapat terdeteksi dengan baik dengan pemeriksaan *Short Tandem Repeat (STR)* lokus FGA. Ukuran produk PCR (bp) untuk lokus FGA : 166–352 bp.

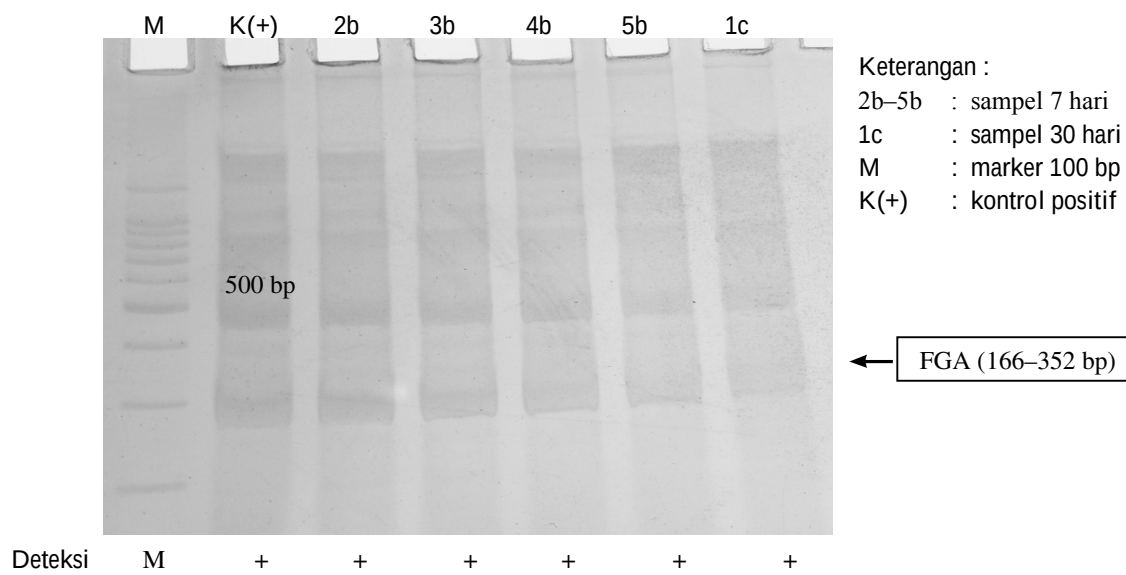
Tabel 6. Hasil deteksi pengaruh waktu dan pencucian detergen terhadap DNA bercak cairan semen dengan pemeriksaan STR-PCR lokus FGA

Perlakuan	Terdeteksi	Tidak terdeteksi
Tanpa perlakuan	4	0
1 hari	4	0
7 hari	4	0
30 hari	4	0
60 hari	4	0
90 hari	4	0

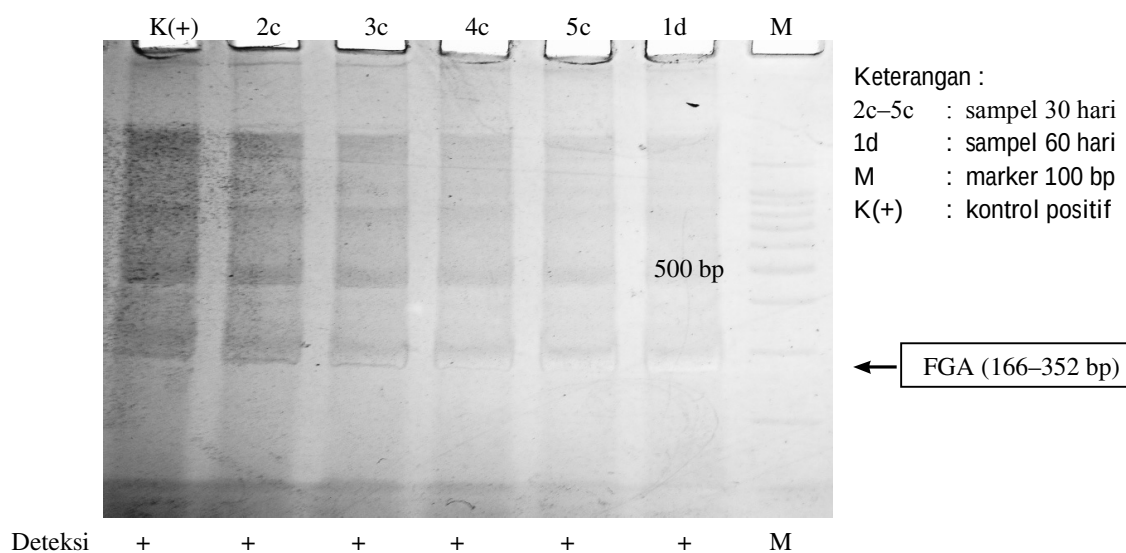
Gambar 1 menunjukkan hasil amplifikasi PCR lokus FGA terhadap sampel DNA bercak cairan semen pada hari ke-1 masih nampak band atau pita.

Gambar 2 menunjukkan hasil amplifikasi PCR lokus FGA terhadap sampel DNA bercak cairan semen pada hari ke-1 dan hari ke-7 masih nampak band atau pita.





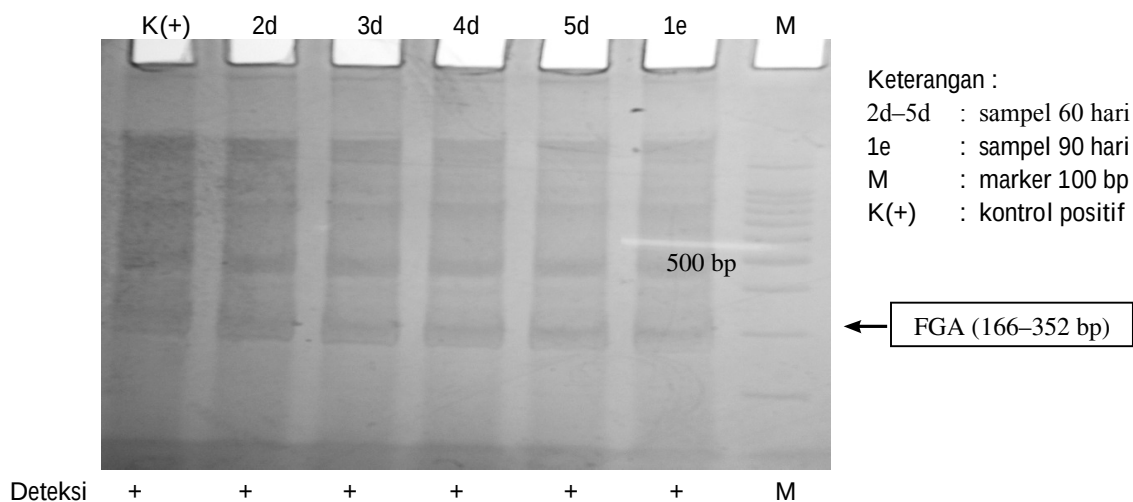
Gambar 3. Hasil amplifikasi STR lokus FGA.



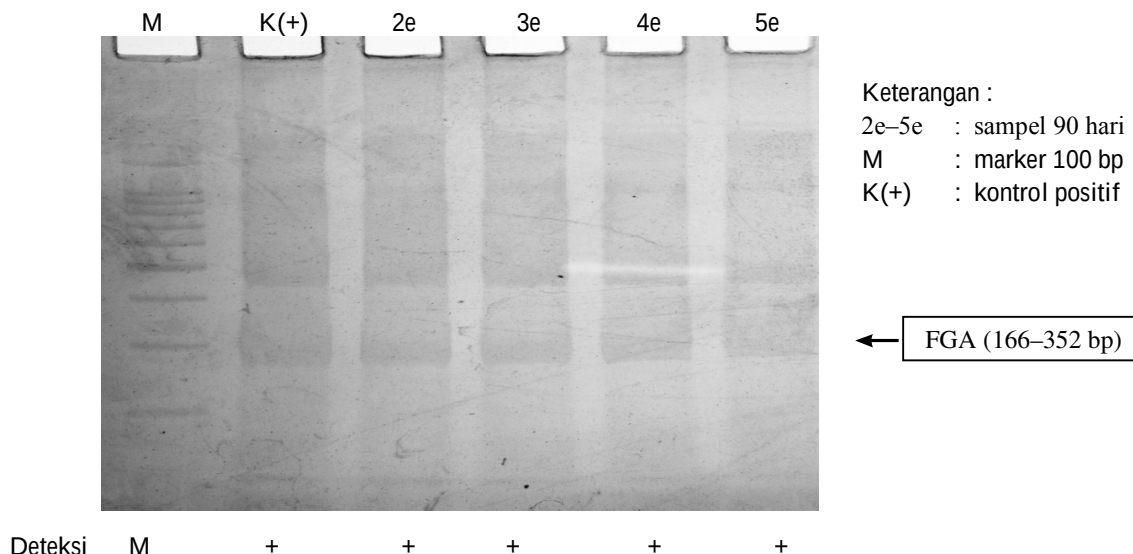
Gambar 4. Hasil amplifikasi STR lokus FGA.

Gambar 3 menunjukkan hasil amplifikasi PCR lokus FGA terhadap sampel DNA bercak cairan *semen* pada hari ke-7 dan hari ke-30 masih nampak band atau pita.

Gambar 4 menunjukkan hasil amplifikasi PCR lokus FGA terhadap sampel DNA bercak cairan *semen* pada hari ke-30 dan hari ke-60 masih nampak band atau pita.



Gambar 5. Hasil amplifikasi STR lokus FGA.



Gambar 6. Hasil amplifikasi STR lokus FGA.

Gambar 5 menunjukkan hasil amplifikasi PCR lokus FGA terhadap sampel DNA bercak cairan *semen* pada hari ke-60 dan hari ke-90 masih nampak band atau pita.

Gambar 6 menunjukkan hasil amplifikasi PCR lokus FGA terhadap sampel DNA bercak cairan *semen* pada hari ke-90 masih nampak band atau pita.

Hasil kemurnian DNA bercak cairan semen

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap pengaruh waktu dalam 1, 7, 30, 60, 90 hari dan pencucian dengan detergen terhadap DNA bercak cairan *semen* pada lokus FGA didapatkan kemurnian DNA berkisar antara

1,13–1,9. Kemurnian DNA menjadi persyaratan dalam pemeriksaan PCR, di mana kemurnian DNA 1–2 (ideal 1,8–2) memungkinkan untuk dilakukan amplifikasi.

Hasil pemeriksaan kadar DNA

Pada penelitian ini membuktikan bahwa terdapat pengaruh waktu dan pencucian dengan detergen terhadap kadar DNA bercak cairan *semen*. Semakin lama waktu perlakuan maka kadar DNA semakin menurun. Hal ini terlihat pada hasil analisa *Kruskal Wallis* yang diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$).

Kadar DNA merupakan faktor penting dalam pemeriksaan DNA forensik yakni berpengaruh terhadap keberhasilan STR-PCR pada sampel-sampel DNA. 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 (**Kusuma**, 2007). Selain tergantung dari kadar DNA dari bahan pemeriksaan, menurut **Sosiawan**, 2007 pada pemeriksaan DNA berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) juga dibutuhkan kualitas DNA yang mencukupi yaitu DNA yang digunakan harus dalam kondisi terdegradasi seminimal mungkin. Jika DNA dalam kondisi terdegradasi parah mengakibatkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan.

Untuk mendapatkan hasil visualisasi yang adekuat dibutuhkan kemurnian DNA yang adekuat dan kadar DNA yang memadai, sehingga DNA dapat digunakan sebagai bahan pemeriksaan DNA. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh waktu dan pencucian dengan detergen terhadap kadar DNA bercak cairan semen. Hal ini ditunjukkan dengan semakin lama waktu perlakuan maka kadar DNA semakin menurun. Namun demikian, adanya penurunan kadar tersebut bukan suatu hambatan karena dengan metode PCR dapat memperbanyak DNA jutaan sampai milyaran kali sehingga memungkinkan dianalisisnya sampel forensik yang jumlahnya amat minim dan sampel yang terdegradasi sebagian.

Degradasi DNA merupakan salah satu penyebab kegagalan deteksi DNA pada pemeriksaan DNA dengan metode PCR. Mengenai kemungkinan penyebab kegagalan deteksi DNA antara lain: jumlah DNA target yang minimal, degradasi DNA sehingga primer tidak dapat menempel dan kurangnya DNA *polymerase*, siklus serta inhibitor PCR.

Pada dasarnya kerusakan DNA dapat di bagi menjadi 2 tipe utama yaitu:

1. Kerusakan dari dalam atau *endogenous damage*, seperti halnya kerusakan yang disebabkan oleh *reactive oxygen species* akibat proses *oxidative phosphorylation*
2. Kerusakan DNA yang disebabkan oleh faktor dari luar atau *exogenous damage*, seperti halnya radiasi ultraviolet (UV 200–300 nm) dari matahari atau radiasi dari sumber lainnya, seperti *x-rays*, *chemical agents* maupun temperatur yang sangat tinggi.

Faktor lingkungan seperti halnya kelembaban, *chemical agents* dan gangguan bakteri atau jamur, sangatlah berpengaruh terhadap kondisi DNA yang digunakan sebagai bahan identifikasi DNA di bidang forensik, sebagaimana

pada pemeriksaan DNA di bidang lainnya (**Sosiawan**, 2007). Faktor lingkungan ini ditengarai menyebabkan DNA mengalami degradasi atau *degraded DNA*, dimana degradasi DNA ini dapat berlangsung secara cepat (*Short time*), maupun berlangsung secara lambat. Hal ini tergantung penyebab dari degradasi DNA itu sendiri, selain tentunya lama waktu terjadinya paparan.

Kerusakan DNA dari luar ini akan mengakibatkan adanya banyak tipe kerusakan, contohnya kerusakan rantai DNA (baik *double strand* maupun *single strand*), kerusakan basa DNA (*base damage*), *sugar damage*, bahkan terjadinya DNA-DNA *crosslinks* maupun DNA-protein *crosslinks*. Kerusakan tersebut diperberat oleh proses degradasi oleh bakteri. Reaksi-reaksi kimia ini mengakibatkan DNA mengalami *Oxidative damage* dan *hydrolytic damage*. *Oxidative damage* menyebabkan kehilangan basa-basa nitrogennya sedangkan *hydrolytic damage* akan menyebabkan terjadinya deaminasi, depurinasi dan deprimidasi basa-basa DNA yang mengakibatkan terjadinya fragmentasi DNA sehingga DNA menjadi fragmen-fragmen yang lebih pendek.

Pengaruh faktor eksternal pada DNA dapat dibagi menjadi 2 tipe yaitu:

Type 1; DNA terdegradasi karena faktor waktu yang relatif lama, di mana kerusakan DNA yang terjadi seringkali disebabkan proses kimiawi dan berlangsung lambat.

Type 2; DNA terdegradasi yang cepat, hal ini disebabkan oleh faktor kelembaban, sinar matahari bahkan temperatur tinggi (**Yudianto**, 2007).

Hasil Analisis Data Kuantitatif

Hasil uji statistik dengan uji *Kruskal Wallis*, diperoleh nilai $p = 0,000$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa “paling tidak terdapat perbedaan kadar DNA yang bermakna pada dua waktu perlakuan”. Dilanjutkan dengan analisis *post Hoc* yang menunjukkan semua signifikan nilai sig.2-tailed adalah $< 0,05$, kecuali waktu perlakuan 1 hari dengan 7 hari, 1 hari dengan 30 hari, 60 hari dengan 90 hari nilai sig.2-tailed $> 0,05$. Sehingga dapat diambil kesimpulan terdapat perbedaan kadar DNA yang berbeda secara bermakna pada semua waktu perlakuan kecuali waktu perlakuan 1 hari dengan 7 hari, 1 hari dengan 30 hari dan 60 hari dengan 90 hari. Dengan kata lain hipotesis yang menyebutkan ada pengaruh waktu dan pencucian dengan detergen terhadap kadar DNA bercak cairan semen diterima. Hal ini dapat dilihat bahwa semakin lama waktu perlakuan maka kadar DNA semakin menurun. Meski demikian penurunan kadar DNA pada sampel forensik, tidak akan terlalu berpengaruh banyak bagi

keberhasilan DNA profiling, terutama pada pemeriksaan *Short Tandem Repeat* (STR). Hal ini karena kadar DNA yang dibutuhkan pada pemeriksaan STR-PCR cenderung sedikit (1–25 ng/ul), sehingga resiko kegagalan dalam proses amplifikasi sangat kecil, dengan syarat DNA tidak terdegradasi total (Kusuma, 2007).

Hasil visualisasi DNA bercak cairan semen pada lokus FGA

Hasil visualisasi dianalisis secara deskriptif, yakni dengan melihat ada tidaknya gambaran pita atau band sesuai dengan ukuran produk PCR (base pair) pada masing-masing lokus dan setingkat dengan kontrol positif yang berasal dari bercak cairan semen. Penelitian ini menggunakan lokus STR-FGA dipilih karena merupakan lokus yang memiliki daya deskriminasi yang besar di populasi Indonesia (Untoro *et al.*, 2009), dengan ukuran produk PCR 166 – 352 bp. Pada penelitian ini ditemukan bahwa meskipun dengan adanya pengaruh waktu dan pencucian detergen yang menyebabkan terjadinya penurunan kadar DNA bercak cairan semen, namun penurunan tersebut tidak menimbulkan efek yang berarti, yang menyebabkan DNA bercak cairan semen kehilangan kemampuannya sebagai bahan identifikasi DNA forensik. Hal ini dibuktikan dalam penelitian ini, yakni meskipun terjadi penurunan kadar DNA bercak cairan semen tetapi hasil STR-PCR pada lokus FGA masih dapat positif terdeteksi semua.

SIMPULAN

Dari hasil analisis identifikasi DNA dalam penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh waktu dan pencucian dengan detergen terhadap kadar DNA bercak cairan semen. Semakin lama waktu perlakuan maka kadar DNA semakin menurun. Hal ini terlihat pada hasil analisa *Kruskal Wallis* yang diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$).

2. Tidak ada pengaruh waktu dalam 1, 7, 30, 60, 90 hari dan pencucian dengan detergen terhadap DNA bercak cairan semen pada lokus FGA dengan metode STR-PCR.

DAFTAR PUSTAKA

- Chadha PD, 1995. Ilmu forensik dan toksikologi, edisi kelima, jakarta: 202–204.
- Dwiyono S. Sidik Jari Genetik Available from : [http://docs.yahoo.com/info/terms/sidik jari genetik](http://docs.yahoo.com/info/terms/sidik_jari_genetik). Accessed: 11/03/2008.
- Kusuma SE, 2007. Forensik Molekuler. Buku Ajar Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal, edisi ketiga, Ed. Hariadi A, Hoediyanto. Departemen Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. hal: 333–335 dan 359–377.
- Notosoehardjo, 1993. Pengaruh Rendaman Bercak Semen manusia dalam Berbagai-macam Deterjen Pada Test Zink dan Tes Fosfatase asam. Majalah Ilmu Kedokteran Forensik Surabaya. Vol. VII No. 1–3 hal 30–36.
- Sosiawan A, 2007. Analisis Efek Paparan Panas Suhu Ekstrem Tinggi Terhadap DNA Yang Berasal Dari Tulang dan Gigi. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Untoro E, *et al.*, 2009. Allele Frequency of CODIS 13 in Indonesian Population, Legal Medicine 11, journal homepage: www.elsevier.com/locate/legalmed, Elsevier Ireland Ltd.
- Yudianto A, 2007. Efektivitas tes asam fosfatase dan tes zink pada pemeriksaan bercak semen manusia sebagai identitas primer. Departemen Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.