

PENGARUH TANAH DAN AIR LAUT TERHADAP KUALITAS DNA DARI OTOT PSOAS JENAZAH MELALUI METODE STR

EFFECT OF SOIL AND SEA WATER TO QUALITY OF PSOAS MUSCLE DNA CORPSE WITH STR METHOD

Ni Putu Puniari Eka Putri^{1*}, Ahmad Yudianto^{1}**

¹Program Studi S2 Ilmu Forensik, Sekolah Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya
e-mail: *puniariekaputri@yahoo.com, **yudi4n6sby@yahoo.co.id

Abstrak

DNA merupakan materi genetik yang berfungsi untuk mengatur aktifitas biologis seluruh bentuk kehidupan. Jaringan otot psoas jenazah merupakan salah satu sumber DNA yang dapat digunakan sebagai barang bukti dalam bidang forensik. Jenazah bisa ditemukan diberbagai tempat seperti terkubur di dalam tanah dan tenggelam di dalam air. Hal ini disebabkan oleh pelaku tindak kriminal yang ingin menghilangkan jejak atau barang bukti dengan mengubur jenazah di dalam tanah maupun menenggelamkan jenazah di dalam air. Biasanya kondisi jaringan otot psoas jenazah sebagai barang bukti di TKP (tempat kejadian perkara) ditemukan sudah terpapar oleh media tanah dan air dalam lama waktu tertentu, sehingga dapat mempengaruhi hasil ekstraksi dan analisis DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh media tanah dan air laut terhadap kualitas DNA dari jaringan otot psoas jenazah dengan lama waktu paparan yaitu hari ke-1, 7, dan 20 hari terhadap lokus STR D13S317 dan D18S51. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kualitas DNA dari jaringan otot psoas jenazah pada media tanah yang dikubur dan air laut yang ditenggelamkan dalam lama waktu paparan hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20 masih dapat diekstraksi, namun terjadi penurunan kadar dan kemurnian DNA secara signifikan.

Kata kunci: air laut, kualitas DNA, STR, tanah.

Abstract

DNA is the genetic material that serves to regulate the biological activity all of forms in life. Psoas muscle tissue corpse is one source of DNA that can be used as evidence in the forensic field. The bodies can be found everywhere, such as buried in the soil and drown in the water. This is caused by criminals who want to eliminate any traces or evidence to bury the corpse in the soil or drown in the water bodies. Usually the psoas muscle tissue condition of the bodies as evidence in a crime scene were found to have been exposed by the soil and water media in a long time, so it can affect the results of DNA extraction and DNA analysis. This study aimed to determine the effects of soil and sea water media on the quality of the DNA from the bodies with the psoas muscle tissue long exposure time day 1, day 7, and day 20 of the STR loci D13S317 and D18S51. These results indicate that the quality of the DNA of muscle tissue psoas bodies in media soil burial and sea water in a submerged long exposure time day 1, day 7, and day 20 still can be extracted, but decreased levels and DNA purity significantly.

.Keywords: *DNA quality, sea water, soil, STR.*

1. PENDAHULUAN

Kasus kematian seseorang sering terjadi akhir-akhir ini dan telah menjadi fenomena yang tidak lazim lagi dikalangan masyarakat luas. Jenazah bisa ditemukan diberbagai tempat seperti terkubur di dalam tanah dan tenggelam di dalam air. Hal ini disebabkan oleh pelaku tindak kriminal yang ingin menghilangkan jejak atau barang bukti dengan mengubur jenazah di dalam tanah maupun menenggelamkan jenazah di dalam air (Laupa, 2013). Selama proses identifikasi muncul beberapa pertanyaan seperti kapan, dimana dan bagaimana jenazah tersebut bisa meninggal akan mampu terjawab (Slone *et al.*, 2004). Hal ini akan berkaitan dengan keterangan/alasan pelaku pembunuhan yang terjadi di TKP (tempat kejadian perkara), karena penentuan waktu kematian sangat penting untuk menentukan situasi terakhir dari jenazah tersebut (Isfandiari, 2009; Miller and Naples, 2002).

Beberapa metode telah dikembangkan untuk mengungkap misteri kasus penemuan jenazah. Salah satunya adalah dengan pengujian DNA forensik (Kreeger *et al.*, 2003). Semua bahan biologis tubuh dapat digunakan sebagai sumber DNA misalnya darah, saliva (bagian epitel mukosa mulut), urine, sperma, kulit, rambut, gigi, tulang dan organ lunak/kuat lainnya (Raven and Johnson, 2002). Pada penelitian ini menggunakan jaringan otot psoas jenazah, karena jenazah yang membusuk dapat diambil bahan biologisnya berupa jaringan dari tubuh jenazah tersebut.

Fadillah (2009), menyatakan DNA dapat diperoleh dari inti sel yang disebut DNA kromosomal dan dari mitokondria yang disebut mtDNA yang sifatnya tidak berkorelasi dengan DNA inti. Pada penelitian ini digunakan pola polimorfisme DNA inti, karena sangat banyak dimanfaatkan sebagai penentuan identitas individu yaitu menggunakan *Short Tandem Repeats* (STR). *Short Tandem Repeats* (STR) merupakan suatu *uncoding region* yang terdapat pada DNA inti dan terdiri dari 2-7 urutan nukleotida yang tersusun berulang. Ukuran fragmen STR biasanya tidak lebih dari 500bp, oleh karena itu STR dapat diamplifikasi

dengan menggunakan jumlah DNA templat yang relatif sedikit serta dapat digunakan untuk menganalisa sampel DNA yang sudah terdegradasi, dengan menggunakan 13-20 lokus STR identitas seseorang dapat ditentukan (Butler, 2006). Dipilihnya kedua buah lokus STR: D13S317 dan D18S51 tersebut, karena memiliki variasi pasangan alel yang tinggi dan kemampuan identifikasi individu yang cukup baik (Budowle *et al.*, 2000).

Pada penelitian ini menggunakan perbedaan kurun waktu pada hari ke-1, hari ke-7 dan hari ke-20. Pemilihan perbedaan kurun waktu tersebut, karena pada hari ke-1 adalah awal dimulainya proses identifikasi di TKP (Sampurna, 2000). Pada hari ke-7 adalah batas waktu paling lambat (maksimal) bagi penyidik/kepolisian (Polri) dalam melakukan proses identifikasi di TKP setelah dilaksanakan pemeriksaan pendahuluan. Ini sesuai dengan Peraturan Kepala Kepolisian Negara Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2012 tentang Manajemen Penyidikan Tindak Pidana (Nugroho, 2013). Kurun waktu pada hari ke-20 merupakan masa penahanan tersangka berdasarkan kegiatan penyidik yang sudah dilakukan, namun apabila perkara belum memuat berkas-berkas secara lengkap, maka dapat diperpanjang untuk proses penyidikan di TKP paling lama 40 hari atas izin jaksa penuntut umum (Marpaung, 2009).

Pemecahan suatu kasus kejahatan akan menyertakan proses penyidikan didalamnya, dimana observasi terhadap bukti fisik dan interpretasi dari hasil analisis (pengujian) barang bukti merupakan alat utama dalam penyidikan tersebut (Anderson, 2000). Pada penelitian ini menggunakan DNA untuk mengungkapkan kasus kematian dari jenazah yang membusuk. Pembusukan (dekomposisi) pada jenazah dipengaruhi oleh kedua media yaitu air dan tanah. Penggunaan media air dan tanah sangat berpengaruh pada proses pembusukan jenazah (Gennard, 2007). Penelitian ini menggunakan media air laut dan tanah regosol yang mempengaruhi proses pembusukan jenazah. Media air laut dan tanah regosol merupakan media yang selalu menjadi obyek utama setiap kasus di Indonesia, seperti jatuhnya pesawat udara AirAsia di tengah laut

Kalimantan dan pembunuhan Angelin yang terkubur dalam tanah di Sanur, Bali.

Penelitian tentang DNA forensik sudah banyak dilakukan di daerah tropis, namun penelitian tentang pemeriksaan kualitas DNA dari jaringan otot psoas jenazah pada media tanah regosol dan air laut masih jarang dan perlu dilakukan. Penelitian ini nantinya akan memberikan informasi untuk kepentingan forensik, yaitu dapat mengetahui pengaruh media air dan tanah terhadap hasil uji kualitas DNA dari jaringan otot psoas jenazah yang mengalami pembusukan di dalam tanah regosol dan di dalam air laut.

2. DNA (*Deoxyribonucleic Acid*)

Semua organisme, baik prokariot dan eukariot tersusun atas sel. Sel merupakan unit struktural dan fungsional dari organisme yang ditemukan pertama kali oleh peneliti Inggris bernama Robert Hooke. Sel eukariot jauh lebih kompleks daripada prokariot, karena sel eukariot memiliki membran dan organel tertentu yang tidak dimiliki sel prokariot. Di dalam sebuah sel juga terdapat materi genetik, tepatnya terletak pada inti sel dan mitokondria pada hewan atau kloroplas pada tumbuhan. Materi genetik dapat berupa *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) atau *Ribonucleic Acid* (RNA) (Campbell *et al.*, 2002).

Deoxyribonucleic Acid (DNA) adalah asam nukleat yang membawa informasi genetik dari generasi ke generasi selanjutnya. *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) diisolir pertama kali tahun 1869 oleh peneliti Jerman bernama Friedrich Miescher, yang pada awal penamaannya disebut nuklein karena terdapat di dalam nukleus. Pada perkembangan selanjutnya, tahun 1880, Fischer menemukan adanya basa purin dan pirimidin yang terdapat dalam asam nukleat. Dilatarbelakangi penemuan Fischer, tahun 1910, Kossel menemukan adenin dan guanin pada purin serta sitosin dan timin pada pirimidin. Seiring dengan berjalannya waktu, penemuan yang berhubungan dengan DNA semakin berkembang, seperti tahun 1910 ditemukannya 5 gula karbon ribose pada molekul DNA oleh Levine. Tahun 1947, Chargaff menyatakan bahwa molekul DNA terdiri dari bagian yang sama dari basa purin dan pirimidin, adenin dan timin serta sitosin dan guanin terdapat dalam

jumlah yang sama. Tahun 1953, Watson dan Crick menemukan bahwa DNA berbentuk *double helix* dan menunjukkan berbagai aktifitas dari molekul DNA (Campbell *et al.*, 2002; Suryo, 2005; Suryo, 2011).

Letak DNA terdapat pada nukleus, mitokondria pada hewan dan terdapat juga pada kloroplas tumbuhan. Ada beberapa perbedaan antara DNA tersebut, yaitu: DNA nukleus yang disebut juga DNA kromosomal, berbentuk benang lurus (*linear*) tidak bercabang dan berasosiasi sangat erat dengan protein histon, sedangkan DNA mitokondria serta kloroplas berbentuk melingkar (*sirkular*) dan tidak berasosiasi dengan protein histon. *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) mitokondria dan kloroplas memiliki ciri khas, yaitu hanya mewariskan sifat-sifat yang berasal dari ibu, sedangkan DNA nukleus memiliki pola pewarisan sifat dari kedua orang tua (Raven *and* Johnson, 2002; Klug *and* Cummings, 2003). Ukuran molekul DNA setiap spesies berbeda satu dengan lainnya. Pada mitokondria molekul DNA berukuran 5 μ dan molekul DNA pada bakteri berukuran 1,4mm. Molekul DNA pada sel yang berinti sejati berukuran sekitar 50-60 μ menurut Solari, sedangkan menurut Cairns sekitar 500 μ dan 1,6-1,8mm menurut Huberman dan Riggs (Suryo, 2005).

Menurut Suryo (2011), molekul DNA berbentuk *double helix* yang terdiri atas susunan kimia yang terdiri atas tiga macam molekul, yaitu: gula pentosa yang dikenal sebagai deoksiribosa, asam fosfat dan basa nitrogen yang terdiri atas basa purin dan pirimidin. Menurut Lewis (2003), purin terdiri atas adenin (A) dan guanin (G), sedangkan pirimidin dibedakan menjadi timin (T) dan sitosin (S). Adenin hanya akan berpasangan dengan timin dan guanin hanya berpasangan dengan sitosin. Adenin dan timin dihubungkan oleh dua atom hidrogen, sedangkan guanin dan sitosin dihubungkan dengan tiga atom hidrogen.

Tes DNA dilakukan dengan cara mengambil DNA dari kromosom sel tubuh (*autosom*) yang mengandung STR (*short tandem repeats*). 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 (Dauber *et al.*, 2003; Di Lonardo *et al.*, 2004). Aplikasi teknik ini misalnya pada tes DNA untuk paternitas (pembuktian anak kandung), yaitu tes DNA untuk membuktikan apakah seorang anak benar-benar adalah anak kandung dari sepasang suami dan isteri. Cara memeriksa tes DNA dilakukan dengan cara mengambil STR dari anak (Dauber *et al.*, 2012).

Fenomena pembuktian kebenaran hubungan antara orang tua dan anak akhir-akhir ini sering terjadi di masyarakat. Beberapa kasus yang memerlukan pembuktian paternitas diantaranya tentang ragu ayah, hasil buah perselingkuhan, kasus bayi tertukar, dan anak dari kasus pemerkosaan (Junitha, 2012). Pada setiap kasus tersebut membutuhkan kepastian dari orang tua si anak. Hal tersebut dapat dibuktikan melalui tes paternitas, yaitu dengan tes DNA sehingga dapat memberikan bukti yang akurat hubungan biologis antara orangtua dan anak (Ma *et al.*, 2006).

Di laboratorium akan dianalisa urutan untaian STR ini apakah urutannya sama dengan seseorang yang dijadikan pola dari seorang anak. Urutan tidak hanya satu-satunya karena pemeriksaan seorang anak ditemukan bahwa pada kromosom nomor tiga memiliki urutan kode AGACT dengan pengulangan dua kali. Bila ayah atau ibu yang mengaku orang tua kandungnya juga memiliki pengulangan sama pada nomor kromosom yang sama, maka dapat disimpulkan antara dua orang itu memiliki hubungan keluarga (Goodwin *et al.*, 2004). Seseorang dapat dikatakan memiliki hubungan darah jika memiliki urutan dan pengulangan setidaknya pada 16 STR yang sama dengan keluarga kandungnya, maka kedua orang yang dicek memiliki ikatan saudara kandung atau hubungan darah yang dekat. Jumlah ini cukup kecil dibandingkan dengan keseluruhan ikatan spiral DNA dalam tubuh kita yang berjumlah miliaran (Krenke *et al.*, 2002).

2.1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan suatu kegiatan untuk memisahkan DNA dari kandungan lain dari sebuah sampel sehingga didapatkan DNA murni. DNA yang diekstraksi dapat bersumber dari darah,

sperma, tulang, gigi, rambut, air liur, urine, feses, atau kuku (Butler, 2005). Ada beberapa metode ekstraksi DNA yang umum digunakan, namun prinsip dasar dari semua metode tersebut sama yakni memisahkan protein serta materi-materi lainnya dari molekul DNA. Selain itu langkah-langkah dasar pada ekstraksi DNA adalah, pertama pelisisan sel untuk melepas molekul DNA, kedua memisahkan molekul DNA dari materi seluler lainnya, ketiga pengisolasian DNA sehingga memungkinkan untuk dilakukan amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Butler *et al.*, 2003; Lapien, 2008).

Beberapa metode yang umum dalam ekstraksi DNA terutama pada laboratorium forensik diantaranya adalah metode *fenol-kloroform*, metode *chelex* dan metode FTA (*Flitzco/Flinder Technology Agreement*) (Mullen *et al.*, 2009). Prosedur dari tiap metode juga bisa bervariasi tergantung dari mana sumber DNA akan diekstraksi. Misalnya, sampel darah dapat diperlakukan berbeda dengan sampel noda darah atau sampel tulang (Butler and Hill, 2012).

Metode yang paling umum dan telah dikenal sejak lama dalam ekstraksi DNA adalah metode organik atau metode *fenol-kloroform* (Sambrook and Russel, 2001). Beberapa bahan kimia digunakan dalam metode ini diantaranya *sodium dedosilsulfat* (SDS) dan proteinase-K yang digunakan untuk menghancurkan membran sel dan protein yang menyelimuti molekul DNA di dalam kromosom. Selanjutnya, campuran *fenol-kloroform* ditambahkan untuk memisahkan protein dari DNA itu sendiri. Proses berikutnya adalah sentrifugasi yaitu pemisahan molekul DNA dengan molekul lainnya dengan memberikan gaya sentrifugal sehingga molekul-molekul akan terpisah berdasarkan berat jenisnya. Metode ini memiliki beberapa kelemahan diantaranya memakan waktu yang lama sampai mendapatkan DNA murni, menggunakan banyak zat-zat kimia berbahaya, dan memerlukan proses pemindahan sampel dari satu mikrotube ke *mikrotube* lain berkali-kali sehingga meningkatkan resiko kontaminasi DNA dari zat-zat lain (Butler and Hill, 2012).

Salah satu metode yang dapat menjadi alternatif dan tidak mahal adalah metode

chelex. Metode ini menggunakan suspensi resin pengikat ion yang langsung dicampurkan ke dalam sampel. Suspensi resin pada *chelex* merupakan larutan difinil benzena yang mengandung ion imino diasetat yang dapat mengikat ion-ion metal seperti magnesium dengan mengikat magnesium, enzim penghancur DNA akan tidak aktif sehingga molekul DNA akan tetap terlindungi (Rudin and Crim, 2002). Hasil yang didapat dari metode ini merupakan DNA *single strand*, sehingga perlu dilanjutkan dengan analisis PCR. Metode ini sangat baik digunakan untuk analisis PCR, karena dapat menghilangkan inhibitor PCR serta hanya memerlukan satu mikrotube yang kemungkinan adanya kontaminasi sangat kecil. Selain itu, metode *chelex* tidak memerlukan sampel dalam jumlah besar dan langkah kerja yang banyak dibandingkan dengan metode organik (Butler and Hill, 2012).

Flitzco atau *Flinder Technology Agreement* (FTA) merupakan sebuah kertas yang mengandung empat substansi kimia yang dapat melindungi molekul DNA dan mencegah pertumbuhan bakteri. Sampel yang diletakkan pada kertas FTA akan mengalami lisis pada membran sel dan mengering. Selanjutnya, setitik sampel dari kertas diambil dan dimasukkan ke dalam *mikrotube* yang sudah terisi dengan reagen penjernih khusus dari inhibitor PCR (Butler and Hill, 2012). Kertas FTA yang sudah berisi sampel dapat disimpan pada suhu ruangan dalam waktu yang cukup lama sampai delapan tahun dan menghasilkan hasil PCR dengan kualitas yang baik (Mullen *et al.*, 2009).

2.1.1. Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA merupakan suatu proses perbanyak DNA sehingga dapat dianalisis secara kualitatif. Perbanyak DNA dilakukan dengan teknik PCR, yaitu suatu proses enzimatis pada suatu DNA yang spesifik yang direplikasi secara berulang-ulang sehingga didapatkan banyak kopian urutan DNA yang sama. Proses PCR mencakup proses pemanasan dan pendinginan berulang yang dilakukan sampai sekitar 30 siklus (Stansfield *et al.*, 2002). Ketika pemanasan, ikatan hidrogen pada polinukleotida akan terputus, sedangkan pada

pendinginan DNA akan membentuk kembali pasangan basanya, sehingga dalam proses *annealing* ketika suhu diturunkan dalam mesin PCR, maka primer akan menempel pada *template* DNA untuk suhu optimalnya (Suryo, 2011).

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 (Sujana, 2007).

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 PCR juga diperlukan untuk menghasilkan pita DNA yang diinginkan. Optimalisasi ini menyangkut suhu denaturasi dan penempelan (*annealing*) DNA dalam mesin PCR (Yuwono, 2006).

2.2. Proses pembusukan

Pembusukan adalah salah satu tanda pasti dari kematian, proses kerusakan jaringan akibat bakteri yang berasal dari usus, terutama *Clostridium welchii* dan proses autolisis akibat kerja digestif enzim-enzim tertentu yang dilepaskan sel setelah kematian. Proses pembusukan dipengaruhi oleh faktor interna dan eksterna. Faktor interna yang berpengaruh antara lain umur, sebab kematian dan keadaan jenazah. Sedangkan, faktor eksterna yang berpengaruh adalah mikroorganisme, suhu di sekitar jenazah, kelembaban udara dan medium tempat jenazah berada (Wahyu, 2009).

Tanda-tanda pembusukan jenazah secara klinis yang mulai tampak pada 24 - 48 jam kematian, yaitu warna kehijauan pada perut kanan bawah, pelebaran vena superfisial, muka bengkak, perut mengembung, skrotum

atau vulva membengkak, kulit menggelembung atau melepuh, bola mata melunak, lidah dan bola mata menonjol, dinding perut dan dada pecah, kuku dan rambut lepas, organ-organ membusuk dan hancur (Haefner *et al.*, 2004). Pertumbuhan dan perkembangan setiap organisme tentu dipengaruhi oleh suhu/temperatur. Namun, pada organisme yang dapat mempertahankan suhu tubuh, pengaruh suhu/temperatur lingkungan tidak terlalu besar (Laksmita, 2013).

2.2.1. Pembusukan di darat

Menurut Sykes (2012), pembusukan jenazah dibagi menjadi lima tahap, yakni tahap pertama adalah *Initial Decay (fresh stage)*, dimulai beberapa saat setelah kematian, berlangsung selama 24-72 jam. Tahap kaku mayat dan lebam mayat baru dimulai. Perubahan-perubahan yang terjadi belum nampak secara klinis. Bakteri mulai menyebar ke seluruh tubuh dan menyebarkan enzim digestif. Beberapa serangga mulai tertarik untuk datang dan berkoloni pada jenazah, salah satu yang muncul pertama adalah lalat dari famili calliphoridae. Kemudian, disusul oleh famili sarcophagidae, piophilidae dan muscidae.

Tahap kedua adalah *Putrefaction (bloat stage)*, berlangsung selama 4-10 hari pasca kematian. Pada tahap ini terjadi pembengkakan pada jenazah akibat gas yang dihasilkan oleh metabolisme bakteri anaerob. Gas yang terdiri atas *hydrogen sulphide* dan *methane* itu mulai menimbulkan bau busuk yang nyata. Perut mengembung, lidah dan bola mata menonjol, keluarnya cairan melalui lubang tubuh, warna kehijauan pada kulit yang dimulai dari abdomen adalah tanda-tanda yang terlihat pada tahap ini.

Tahap ketiga adalah *Black Putrefaction (active decay)*, berlangsung selama 10-25 hari pasca kematian. Tanda dari tahap ini adalah bau yang sangat menyengat dan warna kehitaman pada jenazah. Bagian-bagian tubuh jenazah terbuka dan semakin memudahkan larva lalat untuk masuk. Pada tahap ini biasanya larva lalat telah mencapai 3rd instar, kemudian mulai meninggalkan jenazah untuk menjadi pupa.

Tahap keempat adalah *Butyric Fermentation Stage (advance decay)*, berlangsung selama 20-25 hari pasca kematian. Pada tahap ini jenazah terlihat lebih kering dari sebelumnya. Terjadi fermentasi menghasilkan gas asam butirat (berbau seperti keju) yang menarik serangga dari spesies lain, seperti kumbang dari famili carcass, trogidae dan dermestidae. Bila jenazah berada di tempat yang basah atau lembab, mungkin famili kumbang tidak akan muncul dan larva dapat bertahan lebih lama.

Tahap kelima adalah *Dry or Remains Decay*, berlangsung selama 25-50 hari pasca kematian. Pada tahap ini jenazah menjadi sangat kering, tertinggal kulit yang mengering, rambut dan tulang, serta lalat atau larva sudah tidak tampak pada jenazah.

Kecepatan masing-masing tahap pembusukan jenazah sangat bervariasi karena dipengaruhi oleh banyak faktor seperti temperatur udara, iklim, penyebab kematian, pakaian, obat-obatan, kandungan lemak dan ukuran tubuh jenazah.

2.2.2. Pembusukan di air

Pembusukan pada jenazah yang berada di air terjadi lebih lambat daripada yang berada di darat. Berdasarkan penelitian terhadap hewan coba babi (*Sus scrofa*) pada bulan Juni – November di sungai Indiana Selatan, proses pembusukan jenazah di medium air dapat dibagi dalam enam tahap (Voss *et al.*, 2008). Tahap pertama adalah *Submerged Fresh*, berlangsung selama 2-6 hari. Tahap rentang waktu antara jenazah tenggelam di dalam air hingga jenazah terlihat mulai terapung di air.

Tahap kedua adalah *Early Floating*, berlangsung selama 6-8 hari. Gas yang diproduksi oleh bakteri-bakteri anaerob dalam tubuh jenazah meningkat, sehingga membuat jenazah terangkat sampai ke permukaan air. Bau busuk yang dihasilkan dari proses pembusukan jenazah ini akan menarik bagi serangga, seperti *blow flies* untuk datang dan meletakkan telur pada bagian tubuh jenazah yang tidak terendam air.

Tahap ketiga adalah *Floating Decay*, berlangsung selama 8-24 hari. Terjadi peningkatan aktivitas larva lalat pada bagian jenazah yang tampak di permukaan air,

menyebabkan banyak luka terbuka pada jenazah. Kulit jenazah mulai mengelupas dan warnanya menjadi kehitaman.

Tahap keempat adalah *Bloated Deterioration*, berlangsung selama 8-12 hari. Sebagian besar tubuh jenazah telah muncul ke permukaan air. Cairan-cairan dalam tubuh keluar dari berbagai lubang pada tubuh jenazah, bahkan gas yang terbentuk pada tahap sebelumnya mampu membuat bagian perut jenazah menjadi pecah.

Tahap kelima adalah *Floating Remains*, berlangsung selama 4-20 hari. Aktivitas larva lalat famili calliphoridae mulai menurun, disebabkan karena terjatuh dan tenggelam, atau bermigrasi atau dimangsa oleh predator lain. Bagian-bagian tubuh jenazah juga telah banyak terurai.

Tahap keenam adalah *Sunken Remains*, hanya tulang dan sedikit kulit dari jenazah yang tersisa dan bau busuk telah menghilang. Kecepatan masing-masing tahap pembusukan dalam air juga sangat bervariasi karena dipengaruhi oleh banyak faktor seperti temperatur air, kadar garam, konsentrasi oksigen, *aquatic organism*, pakaian jenazah, ukuran tubuh jenazah, tenggelam atau terapung (Wahyu, 2009).

3. METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorik untuk membuktikan ada pengaruh media tanah dan air laut terhadap kualitas DNA dari jaringan otot psoas jenazah yang disimpan selama 1, 7, dan 20 hari pada lokus D13S317 dan D18S51. Rancangan penelitian yang digunakan adalah eksperimental *time series* yang dilakukan di laboratorium *Human Genetic Study Group, Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga.

3.2. Bahan

Bahan penelitian yang digunakan untuk penelitian ini antara lain yaitu, jaringan otot psoas yang berasal dari satu jenazah tipe T4, yaitu jenazah yang terlantar tanpa identitas dan tidak memiliki tempat tinggal yang tidak tetap di Instalasi Kedokteran Forensik Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya.

Jenazah tipe T4 yang tidak teridentifikasi tersebut, apabila setelah 2x24 jam tidak ada keluarga yang datang untuk mengambilnya, maka sesuai Undang-Undang dalam KUHP Pasal 133 jenazah tipe T4 tersebut menjadi milik Negara (Yudianto, 2010). Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*random sampling*). Sebelum melakukan sampling sampel penelitian, sampel harus mendapatkan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya.

Mengambil sampel jaringan otot psoas jenazah menggunakan alat, seperti pisau bedah, gunting dan sonde steril. Pipa Paralon PVC 20 mm x 1,5 meter yang steril untuk menyimpan hasil pengambilan potongan jaringan otot psoas jenazah agar sampel jenazah segar terlindungi dari hewan atau serangga. Pipa paralon dilabel menggunakan *drawing pen* permanen untuk memberikan label sesuai sampel pada media air laut maupun tanah regosol berdasarkan perbedaan waktu.

Potongan sampel jaringan otot psoas yang telah diambil dari satu jenazah dimasukkan ke dalam Pipa Paralon PVC 20 mm x 1,5 meter yang telah terisi air laut dan tanah regosol, kemudian didiamkan selama rentang waktu periode 1 hari, 7 hari dan 20 hari. Pada hari ke-1, hari ke-7 dan hari ke-20, potongan jaringan otot psoas jenazah diambil menggunakan sonde steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung steril untuk mencegah kontaminasi. Isolasi DNA dari jaringan otot psoas jenazah mulai dilakukan setelah pengambilan sampel pada setiap waktu periodenya, yaitu hari ke-1 sebanyak 6 sampel, pada hari ke-7 sebanyak 6 sampel dan pada hari ke-20 sebanyak 6 sampel.

Bahan untuk ekstraksi DNA adalah *DNAzol reagent*. Bahan untuk PCR adalah PCR Mix (12,5µl) yang terdiri dari dNTP (ATP, CTP, TTP, GTP), MgCl₂, dan Taq Polimerase, DW Sigma (DNA atau *nuclease free water*), *primer*: D13S317 (5'-ATTACAGAAGTCTGGGATGTGGAGGA-3' dan 5'-GGCAGCCCAAAAAGACAGA-3') dan D18S51 (5'-TTCTTGAGCCCAAGGTTA-3' dan 5'-

ATTCTACCAGCAACAACACAAATAAAC-3').

3.3. Ekstraksi DNA dari jaringan otot psoas jenazah dengan DNAzol reagent (Invitrogen Tech-Linesm)

Sampel jaringan otot psoas jenazah di haluskan dengan mortar, dimasukkan ke dalam tabung conical dan dicampur dengan DNA free water, selanjutnya dilakukan sonikasi selama semalam. Cairan yang masih berada di tabung, dipipet ke tabung yang baru kemudian disentrifus (10.000 g) selama 10 menit. Pellet diambil kemudian dicampur dengan 1ml DNAzol. Keduanya dicampur dengan cara vortexing lalu diinkubasi selama 5 menit pada suhu kamar. Campuran kemudian disentrifus (10.000 g) selama 10 menit pada suhu 4^oC, kemudian viscous supernatant diambil dan dimasukkan ke dalam tabung baru. 0,5 ml etanol absolut ditambahkan, dibolak-balik, kemudian diinkubasi selama 1-3 menit, disentrifus (4.000 g) selama 1-2 menit pada suhu 4^oC, kemudian supernatan dibuang secara hati-hati agar DNA tidak ikut terbuang. Pellet dicuci dengan 0,8-1 ml etanol 75% sebanyak 2 kali dan setiap kali dicuci dibolak-balik selama-3-6 kali. Tabung diletakkan dengan posisi tegak selama 0,5-1 menit, setelah itu etanol 75% dibuang dengan cara pipetting atau decanting. Pellet kemudian dikeringkan dengan cara membiarkan tabung terbuka selama 5-15 detik sesudah etanol 75% dibuang. Pellet yang berisi DNA tersebut kemudian dilarutkan dengan larutan NaOH 8 mM sebanyak 0,2-0,3 ml, divortex secukupnya, kemudian disimpan pada suhu -20^oC.

3.4. Amplifikasi PCR

Amplifikasi DNA melalui PCR dilakukan dengan protokol sebagai berikut: **D13S317** (Gene Ampr. PCR System 9700 Thermal Cyclers, Promega Corp.2001): tahap I: *initial denaturation* 96^oC selama 2 menit; tahap II: siklus 1 (10 kali) yang terdiri dari *subsequent denaturation* 94^oC selama 1 menit, *annealing* 64^oC selama 1 menit, *extension* 70^oC selama 1 menit 30 detik dan siklus 2 (20 kali) yang terdiri dari *denaturation* 90^oC selama 1 menit, *annealing* 64^oC selama 1 menit, *extension* 70^oC selama 1 menit 30

detik; tahap III: *hold step* 4^oC. **D18S51** (Gene Ampr. PCR System 9700 Thermal Cyclers, Promega Corp.2001): tahap I: *initial denaturation* 96^oC selama 2 menit; tahap II: siklus 1 (10 kali) terdiri dari *subsequent denaturation* 94^oC selama 1 menit, *annealing* 64^oC selama 1 menit, *extension* 70^oC selama 1 menit 30 detik dan siklus 2 (20 kali) terdiri dari *denaturation* 90^oC selama 1 menit, *annealing* 64^oC selama 1 menit, *extension* 70^oC selama 1 menit 30 detik; tahap III: *hold step* 4^oC.

3.5. Elektroforesis

Dalam tahap ini dengan menggunakan *Polyacrylamid Agarose Composite Gel Electrophoresis* (PAGE) dengan pewarnaan *silver staining*. Prosedur PAGE (Edvotek, 2001) dilakukan sebagai berikut: agarose gel dibuat dari 30 ml *Tris Boric EDTA* 0,5X dan agarose 0,15 gram, dipanaskan dalam *microwave* sampai jernih kemudian didinginkan sampai suhu 50^oC. Kemudian ditambah *Acrylamid Bis* 4,5 ml dan *Temed* 15 µl. Selanjutnya ditambahkan *amonium persulfat* 100 µl, lalu dituangkan pada cetakan (*gel bed*), ditunggu sampai dingin/membeku. Selanjutnya DNA hasil PCR 12,5 µl dengan *loading* 2 µl dimasukkan dan di-*running* pada *voltage* 70 volt selama 2 jam.

Prosedur *Silver Staining PAGE* (Edvotek, 2001) yang terdiri dari: *drying*: (metanol 20% + gliserol 2%) dalam 100 ml aquades selama 5 menit, *fiksasi*: (etanol 10% + gliserol asam asetat 5%) dalam 100 ml aquades selama 20 menit, *dicuci/ bilas* dengan aquades 1x dengan cepat, *staining*: *AgNO3* 0,1% dalam aquades 100 ml selama 50-80 menit, *developing*: (*NaOH* 1,5% + *Formalin* 100 µl) dalam 100 ml aquades, lalu dilihat di lampu sampai terlihat jelas.

Analisis DNA menggunakan *ultracentrifuge* (Gyrozen Co., Ltd.), *vortex mixer*, *refrigerator* untuk menyimpan sampel, pipet mikro (*eppendorf pipette*) P10, P100, dan P1000, *Thermal cyclers PCR Machine* (Boeco), elektroforator (*Mini Run Gel Electrophoresis System GE-100*), *UV transilluminator* (BioRad), *ice box*, *microwave*, inkubator, *autoclave* dan kamera digital untuk mengambil foto dari hasil elektroforesis.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Enam sampel jaringan otot psoas jenazah yang homogen telah diambil DNAny. Kadar dan kemurnian DNA dari sampel jaringan otot psoas ditemukan berbeda antara media tanah dan air laut pada lama waktu paparan hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20. Dalam penelitian ini diawali dengan perlakuan pada sampel jaringan otot psoas jenazah, yakni pemaparan lama waktu. Adapun lama waktu paparan dalam penelitian ini: hari ke-1, 7, dan 20.

Tabel 1. Kadar dan kemurnian DNA sampel jaringan otot psoas jenazah.

Kode Sampel	Kadar DNA (µg/ml)	Kemurnian DNA
Tanah hari ke-1	5411	1,11
Air Laut hari ke-1	1060,5	1,29
Tanah hari ke-7	808,5	1,01
Air Laut hari ke-7	752,5	1,15
Tanah hari ke-20	773,5	0,99
Air laut hari ke-20	703,5	1,04

Kemudian dilanjutkan dengan isolasi DNA sampel jaringan otot psoas dengan metode *DNAzol*. Hasil isolasi DNA sampel tersebut dilanjutkan dengan pengukuran kadar DNA dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 260/280 nm. Hasil pengukuran kadar DNA setelah isolasi DNA dari sampel jaringan otot psoas jenazah sebelum dilakukan amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 terlihat adanya penurunan kadar dan kemurnian DNA dari jaringan otot psoas pada sampel yang terpapar lama waktu baik pada media tanah maupun air laut. Semakin lama waktu yang dipaparkan semakin turun kadar dan kemurnian DNAny, yaitu pada hari ke-1, 7, dan 20 berturut-turut pada media tanah adalah 5411 µg/ml dan 1,11; 808,5 µg/ml dan 1,01; dan 773,5 µg/ml dan 0,99. Sedangkan, kadar dan kemurnian DNAny, yaitu rerata pada hari ke 1, 7, dan 20 berturut-turut pada media air laut adalah 1060,5 µg/ml dan 1,29; 752,5 µg/ml dan 1,15; dan 703,5 µg/ml dan 1,04. Adanya penurunan kadar

DNA dalam penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh lama waktu paparan, sehingga mengakibatkan adanya kerusakan struktur DNA tersebut. Kerusakan DNA yang disebabkan oleh paparan-paparan yang abnormal contohnya temperatur yang tinggi tersebut menurut Watson (1986), disebabkan oleh rusaknya ikatan hidrogen DNA yang *irreversible*. Kondisi ini mengakibatkan kerusakan pasangan purin-primidin pada DNA, dimana pasangan purin-primidin ini merupakan komponen utama pada struktur DNA.

Dari hasil penelitian ini membuktikan adanya pengaruh efek lingkungan dalam hal ini lama waktu paparan terhadap pengukuran kadar DNA yang terkandung. Hal tersebut terlihat dari hasil pengukuran kadar dan kemurnian DNA melalui spektrofotometer menunjukkan penurunan kadar dan kemurnian pada sampel jaringan otot psoas yang terkubur di dalam tanah dan ditenggelamkan di dalam air laut tempat dari hari ke-1, 7 sampai hari ke-20 terdapat adanya penurunan. Namun dengan adanya penurunan kadar tersebut, bukan merupakan suatu hambatan sebab kadar DNA yang tersisa masih memungkinkan untuk dilakukan pemeriksaan *DNA profiling* yakni minimal 50 ng (Notosoehardjo, 1999).

Kadar minimal DNA yang dapat digunakan pada analisis DNA pada prinsipnya tergantung pada kebutuhan dan jenis pemeriksaan yang dilakukan. 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 *DNA profiling*. Menurut Notosoehardjo (1999), kadar DNA minimal yang dibutuhkan pada pemeriksaan DNA forensik masing-masing sebesar 50 ng dan 20 ng, sedangkan menurut Butler (2001), kadar DNA dalam pemeriksaan STR minimal 0,5-2,5 ng. Dalam penelitian ini kadar DNA yang didapat dari sampel jaringan otot psoas jenazah pada media tanah antara rentang 5411-773,5 µg/ml, sedangkan kadar DNA yang didapat dari sampel jaringan otot psoas jenazah pada media air laut antara rentang 1060,5-703,5 µg/m, sehingga masih

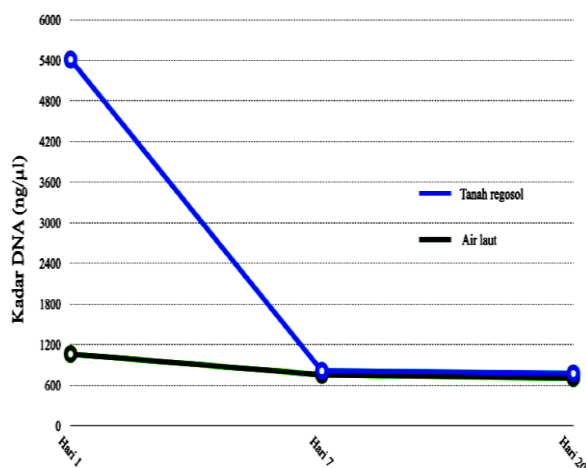
mencukupi untuk dilakukan pemeriksaan analisis DNA.

Tabel 2. Hasil pengujian bahan penelitian.

Parameter	Satuan	Tanah	Air Laut
pH	-	8,75	5,50
NaCl	mg/L	314,20	1.652,93

Sampel jaringan otot psoas jenazah di tanah regosol pada hari ke-20 mengalami penurunan kemurnian DNA yang sangat signifikan yaitu 0,99, namun sampel jaringan otot psoas jenazah di air laut pada hari ke-20 tetap stabil memiliki kemurnian DNA yang baik, yaitu 1,04. Contoh hasil uji kemurnian DNA sampel pada hari ke-20 di media tanah dan air laut ini, didukung oleh Voss *et al.* (2008), yang menyatakan bahwa kemurnian DNA dipengaruhi oleh mikroba, suhu, dan kelembaban pada proses pembusukan jenazah yang berada di air laut terjadi lebih lambat daripada proses pembusukan di darat (di dalam tanah).

Kualitas air dinyatakan dengan beberapa parameter, seperti parameter fisika yaitu suhu, kekeruhan, padatan terlarut, dan sebagainya, parameter kimia yaitu pH, oksigen terlarut, BOD, kadar logam, dan sebagainya dan parameter biologi yaitu keberadaan *plankton* dan bakteri (Effendi, 2003). Hal tersebut didukung oleh hasil pengujian kandungan pH dan NaCl terhadap kedua media tersebut di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya menyatakan media air laut memiliki kadar NaCl yang cukup tinggi yakni 5,50 dan 1.652,93 mg/L, dibandingkan media tanah regosol memiliki kandungan pH di atas 7,00 yakni 8,75 dan NaCl 314,20 mg/L (Tabel 2).



Gambar 1. Grafik penurunan kadar DNA dan waktu paparan.

Hal ini diperkuat dengan adanya sebuah grafik yang menunjukkan penurunan kadar DNA dan waktu paparan pada kedua media secara jelas (Gambar 1). Garis biru pada grafik diatas menyatakan penurunan kadar DNA yang sangat signifikan menurun pada media tanah mulai hari ke-1, hari ke-7, sampai hari ke-20. Garis hitam menyatakan penurunan kadar DNA pada media air laut mulai hari ke-1, hari ke-7, sampai hari ke-20.

Menurut Kodoatie (1996), konsentrasi klorida (Cl⁻) dapat mempengaruhi kualitas air tanah, dimana berdasarkan pembagian kualitas air tanah yaitu air payau-garam (Brackish-salt) mengandung klorida 1000-10000 mg/L. Purwanto (2003) menyatakan kandungan NaCl yang cukup tinggi tersebut yang membuat sampel jaringan otot psoas jenazah khususnya di air laut dalam lama waktu paparan pada hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20, kadar dan kemurnian DNAny tetap bagus, yaitu diatas 1,00 (Sambrook *et al.*, 1989). Kemurnian DNA menjadi persyaratan dalam pemeriksaan *Polimerase Chain Reaction* (PCR) dimana kemurnian DNA 1-2 (ideal 1,8-2) memungkinkan dilakukan amplifikasi (Kusumadewi dkk., 2012).

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% (Sosiawan, 2007). 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 mungkin (Kusuma dan Yudianto, 2010). Apabila DNA dalam kondisi terdegradasi parah, maka dapat mengakibatkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan (Sosiawan, 2007).

Degradasi DNA pada jenazah dapat disebabkan oleh 2 faktor, yaitu endogenous dan exogenous. Faktor endogenous berasal pada sel sendiri, yang juga dikenal sebagai 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 (Sosiawan, 2007). 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 (Notosoehardjo, 1999).

Hasil pemeriksaan efek perlakuan lama waktu paparan pada media tanah dan air laut terhadap DNA dari jaringan otot psoas jenazah dalam lokus-lokus STR CODIS (D13S317 dan D18S51) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil deteksi efek perlakuan lama waktu paparan pada media tanah dan air laut terhadap DNA dari

jaringan otot psoas jenazah pada lokus STR CODIS (D13S317 dan D18S51).

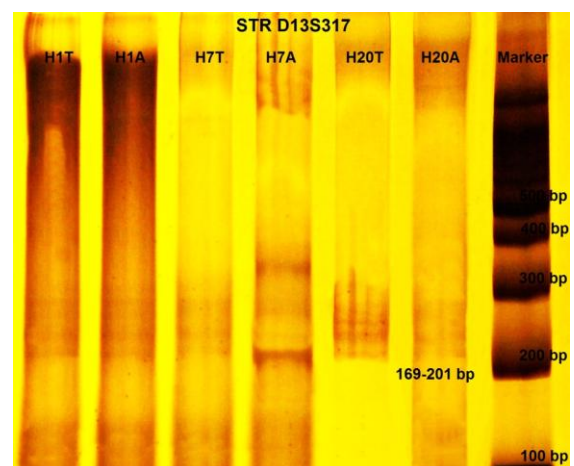
Media dan Lama Waktu	D13S317		D18S51	
	T	TT	T	TT
Tanah Hari 1	6	0	6	0
Air Laut Hari 1	6	0	6	0
Tanah Hari 7	6	0	6	0
Air Laut Hari 7	6	0	6	0
Tanah Hari 20	6	0	6	0
Air Laut Hari 20	6	0	6	0

Keterangan:

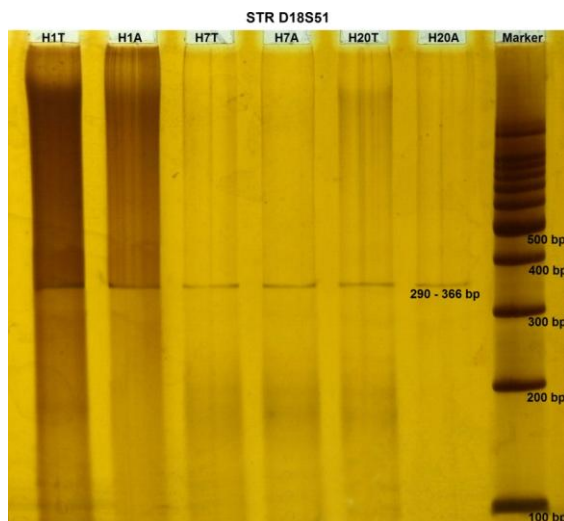
T : terdeteksi

TT : tidak terdeteksi

Dari Tabel 3, pada seluruh sampel dalam penelitian ini yang dilakukan pemeriksaan melalui DNA *profiling* pada lokus D13S317, dan D18S51 dari DNA hasil isolasi jaringan otot psoas jenazah semua terdeteksi dan penampakan pita *band*-nya sama karena sampel homogen. Pada lokus D13S317 pada hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20 semua sampel menunjukkan pita *band* yang tipis/samar. Namun, pada lokus D18S51 pada hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20 semua sampel menunjukkan pita *band* yang tebal/jelas.



Gambar 2. Hasil visualisasi PCR lokus D13S317 (169-201 bp).



Gambar 3. Hasil visualisasi PCR lokus D18S51 (290-366 bp).

Keterangan:

- H1T : Sampel hari ke-1 dalam tanah
- H1A : Sampel hari ke-1 dalam air laut
- H7T : Sampel hari ke-7 dalam tanah
- H7A : Sampel hari ke-7 dalam air laut
- H20T : Sampel hari ke-20 dalam tanah
- H20A : Sampel hari ke-20 dalam air laut
- M : *Marker ladder* 100 bp

Visualisasi hasil PCR dengan PAGE pada Gambar 2, menunjukkan semua sampel terdeteksi dengan pita *band* yang tipis/samar pada semua perlakuan lama waktu terhadap lokus D13S317 (rentang antara 169 bp - 201 bp). Visualisasi hasil PCR dengan PAGE Gambar 3, menunjukkan semua sampel terdeteksi dengan pita *band* yang tebal/jelas pada semua perlakuan lama waktu terhadap lokus D18S51 (rentang antara 290 bp - 366 bp).

Dalam penelitian menunjukkan perlakuan lama waktu paparan yakni hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20 pada lokus (D13S317, dan D18S51) semua sampel dalam visualisasi hasil *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan *silver staining* PAGE nampak pita/*band*-nya terdeteksi). Namun hanya lokus D18S51 semua sampelnya (100%) nampak pita/*band*-nya (terdeteksi tebal/jelas), sedangkan lokus D13S317 hanya (50%) yang nampak jelas pita/*band*-nya, (terdeteksi namun tipis/samar). Hal ini menunjukkan bahwa pada pemeriksaan DNA bahan jaringan otot psoas jenazah melalui deteksi lokus STR (D13S317 dan D18S51) didapatkan respon deteksi yang

berbeda pada berbagai waktu lama paparan yang telah diberikan pada sampel jaringan otot psoas jenazah.

Disamping kadar DNA sampel, pada pemeriksaan DNA berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) juga dibutuhkan kualitas DNA yang mencukupi. Kualitas DNA yang dimaksud yakni bahwa DNA yang digunakan dalam analisis harus dalam kondisi yang terdegradasi. Jika DNA mengalami degradasi parah mengakibatkan primer tidak dapat menempel atau *annealing* pada DNA target yang akan digandakan (Muladno, 2002).

Menurut Muladno (2002), untuk mendapatkan hasil visualisasi yang adekuat dibutuhkan kemurnian DNA yang adekuat dan kadar DNA yang memadai, sehingga DNA dapat digunakan sebagai bahan pemeriksaan DNA termasuk dalam hal ini adalah identifikasi dan tes paternitas. Oleh karena itu, kualitas DNA yang bagus menjadi prasyarat fundamental bagi keberhasilan reaksi PCR secara keseluruhan. Sensitivitas PCR merupakan fungsi dari jumlah siklus dan kadar serta integritas dari DNA.

Penelitian ini menggunakan sampel jaringan otot psoas. Jaringan otot merupakan jaringan yang menunjukkan kerja mekanis dengan cara berkontraksi. Serabut-serabut otot itu pada hakikatnya merupakan sel-sel otot. Serabut-serabut otot berkumpul menjadi berkas-berkas otot. Beberapa berkas otot berkumpul membentuk otot atau daging. Bagian tengah dari daging ini menyambung dan kedua ujungnya mengecil dan keras, disebut urat atau tendon. Tendon inilah yang menempel pada daging atau otot. Otot manusia adalah setengah dari berat tubuh manusia yang mencapai lebih dari 600 jenis, yaitu salah satunya adalah otot psoas.

Musculus psoas major merupakan otot-otot dinding posterior abdomen. Fungsi dari otot ini adalah sebagai fleksi tungkai atas terhadap tubuh, jika tungkai atas difiksasi, maka otot ini mengfleksikan badan terhadap tungkai atas, seperti jika waktu duduk dari posisi berbaring. Musculus psoas major di ambil dengan mengiris bagian pinggul jenazah tipe T4 pada bagian *distansia intercrystalis setinggi vertebra lumbali IV*. Jaringan otot psoas dikubur di dalam tanah dan ditenggelamkan di dalam air laut selama

maksimal 20 hari (sesuai KUHAP, lama masa penahanan dalam proses penyidikan). Dalam penelitian ini 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 di bidang lainnya.

Sejauh ini pemeriksaan DNA jenazah menggunakan teknik STR banyak digunakan di Indonesia. STR lokus yang diperiksa pada penelitian ini adalah D13S317 dan D18S51, karena lokus-lokus tersebut memiliki daya deskriminasi besar pada populasi Indonesia (Untoro *et al.*, 2009). Adanya perbedaan waktu paparan dari kedua media yang digunakan menyebabkan penurunan kadar DNA dan kemurniannya. Sedangkan untuk hasil elektroforesis, lokus D13S317 dan D18S51 bagus untuk analisis DNA dari jaringan otot psoas jenazah.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kualitas DNA dari jaringan otot psoas jenazah pada media tanah dan air laut yang dikubur dan ditenggelamkan dalam kurun waktu paparan hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-20 masih dapat diekstraksi, namun terjadi penurunan kuantitas DNA sejalan dengan lama waktu paparan jaringan otot psoas jenazah. Terdapat kemampuan lokus STR D18S51 290-366 bp (semua sampel) 100% masih bisa mendeteksi DNA dari jaringan otot psoas jenazah sampai hari ke-20, sedangkan lokus STR D13S317 169-201 bp hanya 50% sampel yang masih bisa mendeteksi DNA jaringan otot psoas jenazah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami sampaikan kepada Indah Nuraini dan Ida Kumala Sari selaku teknisi di Laboratorium *Human Genetic Study Group Institute of Tropical Diseases* (ITD) Universitas Airlangga serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, P D. 2000. An Overview of Forensic Pharmacists Practice.

Journal of Pharmacy Practice. Vol. 13. pp. 179.

Budowle, B., Morreti, T., Baumtraks, A., Defenbaugh, D., and Keys, K. 2000. Population Data on The Thirteen CODIS Core Short Tandem Repeat Loci in Africans Americans, U.S Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans, and Trinidadians. *Journal Forensic Science*. 44(6). 1277-1286.

Butler, J. M. 2001. *STR Analysis for Human Testing, STR Typing*. Current Protocols in Human Genetic Unit.14.8; 1-37.

Butler, J. M. 2003. *Forensic DNA Typing*. Academic Press: Sandiego Florida. Pp 28-30, pp 59-96.

Butler, J. M. 2005. *Genetics and Genomics of STR Marker*. 2nd ed. New York: Elsevier Academic Press.

Butler, J. M. 2006. Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing. *Journal Forensic Science*. 51(2). 253-265.

Butler, J. M. and Hill, R. C. 2012. Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Usefull for Forensic DNA Analysis. *Forensic Science Review*. 24(15).

Campbell, N., J. Reece and L. Mitchael. 2002. *Biologi*. Jilid Pertama. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.

Cooper, A. and Poinar, H. N. 2000. *Ancient DNA: do it right or not at all*. Science 289, 1139.

Dauber, E. M., Bar, W., Klintschar, M., Neuhuber, F., Parson, W., Glock, B. 2003. Mutation Rate at 23 Different Short Tandem Repeat Loci. *International Congress Series 1239*. 565-567.

Dauber, E. M., Kratzer, A., Neuhuber, F., Parson, W., Klintschar, M., Bar, W. 2012. Germline Mutation of STR-Alleles Include Multi-Step Mutations As Define By Sequencing of Repeat of Flanking Regions. *Forensic Science International Genetics*. 6(3). 381-386.

Di Lonardo, A. M., Cardozo, M. B., Colica, M. V., Abovich, M. A., Echenique, C. 2004. Genetic Inconsistencies In Paternity Case. *International Congress Series 1261*. 488-490.

- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya Air dan Lingkungan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Fadillah. 2009. *Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal*. Available at: <http://yasinfadillah.blogspot.com>. Opened: 01.06.2016.
- Gennard, D., E. 2007. *Forensic Entomology*. John Wiley and Sons Ltd. England.
- Goodwin, W., Ballard, D., Simpson, K., Thacker, C., Syndercombe Court, D., Gow, J. 2004. Case Study: Paternity Testing-When 21 Loci Are Not Enough. *International Congress Series 1261*. 460-462.
- Haefner, J. N., R. W. John R., W. M. Richard. 2004. Pig Decomposition in Lotic Aquatic Systems: The Potential Use of Algal Growth in Establishing a Postmortem Submersion Interval (PMSI). *J Forensic Sci.* 49(2).
- Isfandiari, B. A. 2009. *Perbedaan Genus Larva Lalat Tikus Wistar Mati pada Dataran Tinggi dan Rendah di Semarang*. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Junitha, I. K. 2012. Peranan Analisis DNA dalam Penyelesaian Masalah Sosial di Masyarakat. *Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar Tetap*. FMIPA: Universitas Udayana.
- Klug, W. S. and Cummings M. R.. 2003. *Genetics; a molecular perspective*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Education, Inc.
- Kodoatie, R.K. 1996. *Pengantar Hidrogeologi*. Penerbit Andi: Yogyakarta.
- Kreeger, L. R., S. Attorney, D. M. Weiss dan S. Attorney. 2003. *Forensic DNA Fundamentals for the Prosecutor Forensic DNA Fundamentals for the Prosecutor Be Not Afraid*. Publishing Company, Inc.
- Krenke, B. E., Tereba, A., Anderson, S. J., Buel, E., Culbane, S., Finis, C. J. 2002. Validation of a 16-Locus Fluorescent Multiplex System. *Journal Forensic Science*.47(4). 773-785.
- Kusuma, S. E., dan Yudianto, A. 2010. *Forensik Molekuler, dalam Buku Ajar Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal, edisi keenam, Ed. Hariadi A, Hoediyanto*. Departemen Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. hal: 333-335 dan 359-370.
- Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., dan 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.
- Laksmi, Ayu Saka. 2013. Keberadaan Serangga Pada Bangkai Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Model Prediksi Lama Kematian Untuk Kepentingan Forensik. *Skripsi*. FMIPA Universitas Udayana: Bali.
- Lapian, H. F. N. 2008. *Identifikasi DNA Untuk Korban Kecelakaan Pesawat Spana Air*. Available at: http://mdopost.com/new/index.php?option=com_content&task=view&id=451&Itemid=51. Opened: 01.06.2016.
- Laupa Junus. 2013. *Sains Forensik Pastikan Penjenasah Tidak Terlepas*. Utusan Melayu: Jakarta.
- Lewis, R. 2003. *Human Genetics: Concepts and Applications*. Boston: The McGraw-Hills Company. Inc.
- Ma, H., Huaijie, Z., Fangxia, G., Shen, C. 2006. Paternity Testing. *Journal of American Science*.2(4).
- Marpaung, Leden. 2009. *Proses Penanganan Perkara Pidana (Penyelidikan dan Penyidikan) Edisi Kedua, Cetakan Kedua*. Sinar Grafika: Jakarta.
- Meliala, A., I. Sulhin dan Nurdian. 2007. *Kriminalitas*. Available at: <http://id.shvoong.com/tags/kriminalitas>. Opened: 02.06.2016.
- Miller, J. S and V. L. Naples. 2002. *Forensic Entomology*. Available at: https://www.msu.edu/~tuckey1/VIPP_2005/Biology/Sessions/RKimbirauskas/ForensicEnt_in_the_Classroom.pdf. Opened : 01.06.2016.

- Mullen, M. P., Howard, D. J., Powell, R., Hanrahan, J. P. 2009. A Note of the Use of FTATM Technology for Storage of Blood Sample for DNA Analysis and Removal of PCH Inhibitors. *Irish Journal for Agriculture and Food Research*, 48. 109-113.
- Notosoehardjo, I. 1999. Penentuan Jenis Kelamin Berdasarkan Pemeriksaan DNA dan Antropometri Tulang. *Disertasi Doktor*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Nugroho, Bangkit Adhi. 2013. Fungsi Olah Tempat Kejadian Perkara (TKP) Dalam Penyidikan (Studi Pada Polrestabes Semarang). *Skripsi*. Fakultas Hukum, Universitas Negeri Semarang.
- Purwandianto, A. 2000. *Pemanfaatan Laboratorium Forensik Untuk Kepentingan Non-Litigasi, Melalui Integratif Bahan Ajar Kriminalistik*. Lembaga Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Indonesia: Jakarta.
- Purwanto. 2003. *Modul: Penyediaan Air Bersih*. Semarang: AKL Purwokerto.
- Raven, P. H. and G. B. Johnson. 2002. *Biology*. 6th ed. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Reno, J., D. Marcus, M. L. Leary and J. E. Samuels. 2000. *The Future of Forensic DNA Testing: Justice*. U.S. DOE Human Genome Program.
- Rudin, N. and Crim, K. 2002. *An Introduction to Forensic DNA Analysis Second Edition*. New York: CRC Press.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., dan Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Press. University of Texas South Western Medical Centre, Texas. I.47 hlm.
- Sambrook, J., Russell, D. W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual Third Edition*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sampurna, B. 2000. *Laboratorium Kriminalistik Sebagai Sarana Pembuktian Ilmiah, dalam Tim IBA Kriminalistik*. Lembaga Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Indonesia: Jakarta.
- Slone, D. H. , S. V. Gruner., and J. C. Allen. 2004. *Unpublished. Assessing Error In Pmi Prediction Using A Forensic Entomological Computer Model*. New York: CRC Press.
- Sosiawan, A. 2007. Analisis Efek Paparan Panas Suhu Ekstrem Tinggi Terhadap DNA yang Berasal dari Tulang dan Gigi. *Disertasi*. Surabaya: Program Pascasarjana, Universitas Airlangga.
- Stansfield, W., Raul, C., and Jaime, C. 2002. *Biologi Molekuler dan Sel*. Jakarta: Erlangga.
- Sujana, A. 2007. *Biologi*. Jakarta: Mega Aksara.
- Suryo. 2005. *Genetika*. Universitas Gajah Mada: Yogyakarta.
- Suryo. 2011. *Genetika Manusia*. Universitas Gajah Mada: Yogyakarta.
- Sykes, Yohan Rush. 2012. Dekomposisi (Pembusukan). Available at: <http://bikintau.blogspot.co.id/2012/04/bagaimana-proses-pembusukan-pada-mayat.html>. Opened: 02.06.2016.
- Untoro E, Atmaja JS, Pu CE, Wu FC. 2009. Allele Frequency of CODIS 13 in Indonesian Population. *Legal Medicine* 11: S203-205.
- Voss, S. C., L. F. Shari., R. D. Ian. 2008. Decomposition and Insect Succession on Cadavers Inside a Vehicle Environment. University of Western Australia. *Forensic Sci Med Pathol* (4): 22-32.
- Wahyu, N. 2009. Larva Lalat Pada Bangkai Tikus Wistar Diletakan Di Darat, Air Tawar Dan Air Laut. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Available at: http://eprints.undip.ac.id/13515/1/Novita_Wahyu.pdf. Opened: 01.06.2016.
- Watson. 1986. *Molecular Biology of the Gene, 4th ed*. Cummings Publishing Company, Inc.
- Yudianto, A. 2010. Analisis DNA Tulang dan Gigi pada Lokus Short Tandem Repeat-Combined DNA Index System (STR-CODIS), Y-Chromosome STRs dan Mitochondrial DNA (mtDNA)

Akibat Paparan Panas Suhu Tinggi.
Disertasi. Surabaya: Program
Pascasarjana Universitas Airlangga.

Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi
Polymerase Chain Reaction; panduan
eksperimen PCR untuk memecahkan
masalah biologi terkini.* Yogyakarta:
Penerbit Andi.