

57321  
SAD

p a



**PERBEDAAN KEBERHASILAN PEMERIKSAAN DNA  
MITOKONDRIAL PADA SAMPEL DARAH DAN URIN SIMPAN**

**Oleh :**

**Arif Rahman Sadad**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I (PPDS I)  
BAGIAN ILMU KEDOKTERAN FORENSIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNDIP / RS DOKTER KARIADI  
SEMARANG  
2004**

**PERBEDAAN KEBERHASILAN PEMERIKSAAN DNA MITOKONDRIAL  
PADA SAMPEL DARAH DAN URIN SIMPAN**

**Karya ilmiah akhir  
Untuk memenuhi persyaratan  
Program Pendidikan Dokter Spesialis – I  
Ilmu Kedokteran Forensik**

**Pada  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**Oleh :**

**Arif rahman sadad**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ( PPDS I )  
BAGIAN ILMU KEDOKTERAN FORENSIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNDIP / RS DOKTER KARIADI  
SEMARANG**

**2004**

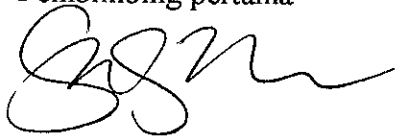
**Karya ilmiah ini telah disetujui untuk dipertahankan**

**Di hadapan tim penguji**

**PPDS I Ilmu Kedokteran Forensik FK UNDIP**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing pertama



dr. Sofwan Dahlan, SpF  
NIP : 130 368 065

Pembimbing kedua



dr. Gatot Suharto, SpF, MKes, DFM  
NIP : 131 610 341

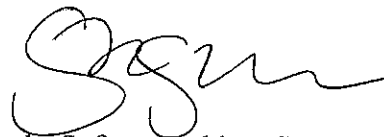
Mengetahui :

Ketua Bagian  
Ilmu Kedokteran Forensik  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro

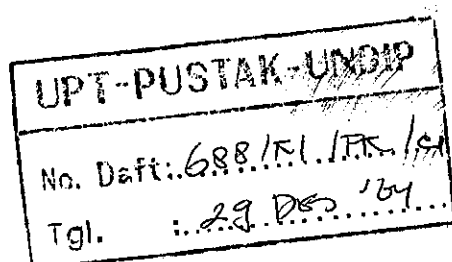


dr. Maryono, SpF  
NIP. 130 368 074

Ketua Program Studi  
Ilmu Kedokteran Forensik  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro



dr. Sofwan Dahlan, SpF  
NIP. 130 368 065



# DIFFERENCE IN RESULT OF MITOCHONDRIAL DNA TEST IN BLOOD SAMPLE AND STORED URINARY SAMPLE

Arif Rahman Sadad, Sofwan Dahlan, Gatot Suharto

## ABSTRACTS

**Backgrounds:** Identification of a person, either a victim or a criminal, in various forensic cases could use various methods, i.e. conventional and modern methods, whereas is based on genetic code (DNA). DNA test has an advantage because DNA has more stable property than conventional genetic marker method. Other than nDNA that is frequently more well known as DNA, in 1981 the mitochondrial DNA (mtDNA) was discovered. Every cell has about 1000 to 10,000 copies of mtDNA, so mtDNA may be found in a very small amount of sample. It is very different from nDNA that only 2 copies are found in each cell.

**Purpose of Study:** To find out the difference in result of stored urinary mtDNA test as compared with blood mtDNA test and than used for reference to personal identification.

**Materials and Methods:** Cross-sectional study method with amount of sample in each group is 12 persons. Univariate analysis was performed independently on blood and urinary sample whose mitochondrial DNA has been examined. The results of univariate analysis were presented in the form of frequency distribution table. Bivariate analysis is the follow-up of the results of univariate analysis, this was performed on the results of blood mitochondrial DNA and urinary mitochondrial DNA tests that were presented in the form of 2 x 2 cross table using McNemar test.

**Results:** The results of mitochondrial DNA test on urinary and blood sample with the formation of bands in electrophoresis gel of 12 samples examined. The ratio of the results of urinary mtDNA test to blood mtDNA test is 83.3%. To prove the study hypothesis, further analysis was performed using McNemar test. By using McNemar test we find p value of 0.5. So the study hypothesis was proved to be refused, this means that there are no significant difference between mtDNA test on urinary sample and on blood sample. This is an evidence that the rate of successful results in mtDNA test on urin is very high.

**Conclusion:** The rate of successful result of urinary DNA mitochondrial : blood DNA mitochondrial test is 83.3%. We find p value that is not significant (0.5), this is an evidence that mtDNA test on urine has a high rate of successful results that almost reach the rate of successful results of blood mtDNA test that is considered as reference sample.

**Keyword:** *mitochondrial DNA, blood sample, urinary sample.*

# PERBEDAAN KEBERHASILAN PEMERIKSAAN DNA MITOKONDRIAL PADA SAMPEL DARAH DAN SAMPEL URIN SIMPAN

Arif Rahman Sadad, Sofwan Dahlan, Gatot Suharto

## ABSTRAK

**Latar Belakang :** Identifikasi seseorang baik korban maupun pelaku pada berbagai kasus forensik, dapat menggunakan berbagai cara, yaitu cara konvensional dan modern, yaitu dengan pemeriksaan DNA. Pemeriksaan DNA mempunyai keunggulan karena DNA bersifat lebih stabil dibanding metode petanda genetik konvensional. Selain nDNA yang seringkali lebih dikenal dengan istilah DNA, pada tahun 1981 ditemukan mitokondrial DNA ( mtDNA ). Setiap sel mempunyai 1000 hingga 10.000 copy mtDNA, sehingga mtDNA dapat ditemukan pada sampel yang sangat sedikit. Hal ini berbeda sekali dengan nDNA yang pada setiap selnya hanya mempunyai 2 copy / sel.

**Tujuan penelitian :** Untuk mengetahui perbedaan keberhasilan pemeriksaan DNA mitokondrial dan DNA inti pada sampel darah dan urin yang selanjutnya dapat dipergunakan sebagai rujukan untuk identifikasi personal lebih lanjut.

**Bahan dan cara :** Metode penelitian cross-sectional dengan jumlah sampel masing-masing kelompok adalah 12 orang. Analisa univariate dilakukan secara terpisah terhadap sampel darah dan urin yang telah diperiksa DNA mitokondria-nya. Hasil analisa univariate disajikan dalam tabel distribusi frekuensi. Analisa bivariate merupakan tindak lanjut hasil analisa univariate, dilakukan terhadap hasil pemeriksaan DNA mitokondrial darah dan DNA mitokondrial urin yang disajikan dalam tabel silang 2 x 2 dengan menggunakan uji McNemar.

**Hasil :** Keberhasilan pemeriksaan DNA mitokondrial pada sampel urin dan darah dengan terbentuknya pita ( bands ) pada gel elektroforesis dari 12 sampel yang diperiksa. Rasio keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin terhadap pemeriksaan mtDNA darah sebesar 83,3%. Untuk membuktikan hipotesis penelitian, analisa lanjut dilakukan melalui uji Mc Nemar. Dengan uji Mc Nemar diperoleh *p value* sebesar 0,5. Sehingga hipotesis penelitian terbukti ditolak, yang berarti tidak ada perbedaan bermakna antara pemeriksaan mtDNA pada sampel urin dengan sampel darah. Hal ini membuktikan bahwa tingkat keberhasilan pemeriksaan mtDNA pada urin sangat tinggi.

**Kesimpulan :** Tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial DNA urin : mitokondrial DNA darah sebesar 83,3%. Diperoleh nilai *p* yang tidak signifikan ( 0,5 ), hal ini membuktikan bahwa pemeriksaan mtDNA pada urin mempunyai keberhasilan yang tinggi yang hampir menyamai tingkat keberhasilan pemeriksaan mtDNA dari darah yang merupakan sampel referensi.

**Kata kunci :** *DNA mitokondrial, sampel darah, sampel urin*

## RIWAYAT HIDUP

Nama : dr. Arif Rahman Sadad  
NIM / NIP : G 3M 001 102  
Tempat / Tanggal lahir : Grobogan, 20 Pebruari 1970  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Laki – laki  
Alamat : Jl. Indraprasta no 41 Semarang

### Riwayat Pendidikan

1. SD : 1983  
2. SMP : 1986  
3. SMA : 1989  
4. FK UNDIP : 1996

### Riwayat Pekerjaan

1. : Dokter jaga di Rumah Sakit Simpangan Depok  
2. : Dokter PTT di Puskesmas Undaan, Kudus  
3. : -

### Riwayat Keluarga

Nama Istri / suami : dr. Nyoman Suci Widyastiti, MKes  
Nama orang tua ayah : Dluha, BA  
Ibu : Sri Nurhayati  
Alamat orang tua / wali : Tegowanu Kulon, RT 07 / I, Grobogan  
Nama anak : 1. Dhaniswara Raditya Rahman  
2. Prajneshwara Rahardhika Rahman  
3. Argyareshwara Davindra Rahman

## KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Pengasih atas anugerahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir dengan judul “ Perbedaan keberhasilan pemeriksaan DNA mitokondrial pada sampel darah dan urin simpan “, sebagai salah satu syarat menyelesaikan studi pada Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Kedokteran Forensik Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penulisan ini tidak akan mampu penulis selesaikan dengan baik tanpa bantuan berbagai pihak. Khusus kepada dr. Sofwan Dahlan, SpF sebagai dosen pembimbing utama dan dr. Gatot Suharto, SpF, Mkes, DFM sebagai dosen pembimbing , penulis mengucapkan terima kasih atas segala bimbingan, sumbangan pemikiran, waktu serta dorongan semangat dalam penulisan karya akhir ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih setulus-tulusnya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro di Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti program pendidikan dokter spesialis.
2. dr. Kabul Rachman , SpKK ( K ) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan mengikuti pendidikan dokter spesialis.

3. dr. Maryono, SpF, kepala bagian Ilmu Kedokteran Forensik FK. UNDIP dan semua staff di bagian Ilmu Kedokteran Forensik FK. UNDIP yang memberikan dukungan dan dorongan semangat selama penulis mengikuti pendidikan dokter spesialis.
4. dr. Soeharsono, SpOG Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan mengikuti program pendidikan dokter spesialis dan senantiasa memberikan dorongan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir ini.
5. dr. Bambang Prameng, SpF dan dr. Santosa, SpF yang telah menyediakan waktu untuk memberikan petunjuk dan arahan terutama saat pembuatan/ perbaikan karya akhir ini.
6. Drg. Henry Setiawan MSc yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam analisis statistik dan metodologi penelitian.
7. Tim penguji proposal dan penguji karya akhir yang telah berkenan memberi masukan dan arahan dalam penelitian dan penulisan karya akhir.
8. Pimpinan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran UNDIP dan Pimpinan Laboratorium Parasitologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta, beserta staf analis laboratorium : Sdri Atin dkk yang mendampingi penulis selama pelaksanaan penelitian.
9. Istri, ibu dan ayah tercinta yang penuh pengertian serta senantiasa mendoakan dan memberikan dorongan semangat agar penulis dapat



menyelesaikan penulisan proposal, penelitian, penulisan karya akhir dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis.

10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan andil yang besar dalam penulisan karya akhir ini.

Akhir kata, penulis yakin bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan, karenanya sangat diharapkan saran serta kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Penulis berharap agar penelitian ini secara luas berguna bagi pembaca, masyarakat dan berguna pula untuk kemajuan kesehatan dan ilmu pengetahuan khususnya bidang Forensik di Indonesia.

Semarang, Juni 2004

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman judul .....	i
Halaman pengesahan .....	ii
ABSTRACT .....	iii
ABSTRAK .....	iv
RIWAYAT HIDUP .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
Daftar isi .....	ix
Daftar tabel .....	xi
Daftar gambar .....	xii
Daftar singkatan .....	xiii
Daftar lampiran .....	xiv
<b>BAB 1 : Pendahuluan</b>	
1.1 Latar belakang penelitian .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	4
1.3 Tujuan penelitian .....	4
1.3.1. Tujuan umum .....	4
1.3.2. Tujuan khusus .....	5
1.4 Manfaat penelitian .....	
1.4.1. Bagi pengembangan ilmu pengetahuan .....	5
1.4.2. Bagi kepentingan masyarakat .....	5
<b>BAB 2 : Tinjauan Pustaka</b>	
2.1 Identifikasi personal	
2.1.1. Identifikasi personal konvensional .....	6
2.1.2. Identifikasi personal modern .....	8
2.2 DNA mitokondrial	
2.3.1 Struktur DNA mitokondrial .....	11
2.3.2 DNA mitokondrial untuk identifikasi personal .....	14
2.3. mtDNA darah .....	16
2.4 mtDNA urin	
2.4.1 Asal dan pengambilan sampel mtDNA urin.....	16
2.4.2 Pemeriksaan mtDNA urin .....	18
<b>BAB 3 : Kerangka konseptual dan hipotesis</b>	
3.1 Kerangka teori .....	19
3.2 Kerangka konseptual .....	20
3.3 Hipotesis .....	20
<b>BAB 4 : Metode Penelitian</b>	
4.1 Rancangan Penelitian .....	21
4.2 Populasi dan sampel	
4.2.1 Populasi .....	21
4.2.2. Sampel .....	
4.2.2.1 Besar sampel .....	21
4.2.2.2 Cara pengambilan sampel .....	22

4.3 Variabel Penelitian dan definisi	
4.3.1 Variabel penelitian	
4.3.1.1. Variabel bebas .....	23
4.3.1.2. Variabel tergantung .....	23
4.3.2. Definisi operasional .....	23
4.4 Hipotesis penelitian .....	24
4.5 Tempat dan waktu penelitian .....	24
4.6 Bahan penelitian .....	24
4.7 Alat / Instrumen penelitian .....	24
4.8 Prosedur pengumpulan data .....	25
4.9 Skema kerja .....	27
4.10 Analisis data .....	28
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Gambaran umum .....	29
5.2 Hasil penelitian .....	29
5.2.1 Analisa univariat .....	29
5.2.2 Analisa bivariante .....	32
5.2.3 Analisa lanjut .....	33
5.3 PEMBAHASAN .....	34
5.3.1 Pemeriksaan mtDNA darah .....	34
5.3.2 Pemeriksaan mtDNA urin.....	34
5.3.3 Tingkat keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin dan darah ....	34
5.3.4 Hasil uji Mc Nemar .....	35
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6.1 Kesimpulan .....	36
6.2 Saran .....	36
<b>BAB VII RINGKASAN</b>	
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>40</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbedaan nDNA dan mtDNA manusia .....	14
Tabel 2. Frekuensi hasil pemeriksaan mtDNA darah.....	29
Tabel 3. Distribusi frekuensi hasil pemeriksaan mtDNA urin.....	30
Tabel 4. Distribusi silang hasil pemeriksaan mtDNA darah dan urin .....	32
Tabel 5. Perbandingan keberhasilan pemeriksaan mtDNA darah dan urin.....	33

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur DNA mitokondrial .....	13
Gambar 2 dan 3. Pita / Bands mtDNA darah .....	31
Gambar 4 dan 5. Pita / Bands mtDNA urin .....	31

## DAFTAR SINGKATAN

DNA	: Deoxyribonucleic Acid
nDNA	: nuclear DNA, DNA inti
mtDNA	: mitochondrial DNA, DNA mitokondrial
D-loop	: displacement-loop
RFLP	: Restriction Fragment Length Polimorphism
PCR	: Polymerase Chain Reaction
VNTR	: Variable Number Short of Tandem Repeats
STR	: Short Tandem Repeats
RNA	: Ribonucleic Acid
rRNA	: ribosomal Ribonucleic Acid
tRNA	: transfer Ribonucleic Acid
NADH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide
HVR	: Hypervariable

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran : Analisa data dan diagram .....	45
-------------------------------------------	----

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. LATAR BELAKANG PENELITIAN

Identifikasi seseorang baik korban maupun pelaku pada berbagai kasus forensik, dapat menggunakan berbagai cara, yaitu cara konvensional dan modern. Cara konvensional yang biasa dipergunakan antara lain dengan metode visual, dari pakaian dan perhiasan yang dipakai, dokumen yang ada, gigi geligi, sidik jari atau metode eksklusi untuk kasus – kasus massal. Namun cara – cara tersebut seringkali belum bisa menjawab identifikasi seseorang ( baik korban atau pelaku ) secara memuaskan, terutama pada korban yang tidak beridentitas, jenazah yang membusuk lanjut, korban mutilasi, atau barang bukti lain yang sudah rusak. <sup>(1,2,3)</sup>

Seiring dengan kemajuan ilmu biomolekuler, maka ilmu forensikpun berkembang dengan pesat. Sejak tahun 1984 berkembang cabang ilmu “ forensic DNA analysis “, yang memungkinkan identifikasi personal tidak hanya menggunakan cara-cara konvensional, tetapi juga menggunakan cara modern yaitu berdasar pada kode genetik ( DNA ). <sup>(1,3,4,5,6)</sup>

Pemeriksaan identifikasi personal dengan menggunakan pemeriksaan DNA mempunyai keunggulan karena DNA bersifat lebih stabil dibanding metode petanda genetik konvensional ( misalnya golongan darah ), dan kode genetik DNA pada setiap individu pasti berbeda, kecuali pada kembar identik. <sup>(3,7)</sup>



Pemeriksaan DNA untuk kepentingan identifikasi personal yang lazim digunakan adalah pemeriksaan nuklear DNA ( nDNA ). Sampel yang paling sering dipergunakan untuk pemeriksaan nDNA dalam proses identifikasi personal adalah sampel darah, karena teknik ekstraksi nDNA paling mudah dan mempunyai tingkat keberhasilan paling tinggi. Sampel pemeriksaan nDNA yang lain ialah dari akar rambut, kuku, jaringan tubuh, sperma dan air liur. Sampel yang jarang digunakan adalah urin, karena DNA yang dapat diekstraksi dari sampel urin sangat sedikit. ( 1,2,3,5,9 )

Pemeriksaan nDNA dari sampel urin jarang dilakukan karena nDNA sulit teridentifikasi pada sampel yang sedikit atau sampel yang telah mengalami degradasi atau denaturasi protein. Hal ini dikarenakan hanya terdapat 2 copy nDNA pada setiap inti sel, sehingga nDNA sulit teridentifikasi pada sampel yang sangat sedikit. ( 1,3,10 )

Identifikasi personal dengan menggunakan sampel urin akhir-akhir ini mulai memegang peran cukup penting. Pada beberapa kasus doping dan pemeriksaan narkoba yang menggunakan sampel urin dengan hasil yang positif seringkali terjadi penyangkalan oleh pengguna ( probandus/ yang dicurigai ) bahwa urin yang dikemihkan bukan milik mereka atau urin tersebut tertukar. Pada kasus tersebut maka identifikasi personal untuk mengetahui kepemilikan urin dengan pemeriksaan DNA urin menjadi berperanan sangat penting. ( 1,3,9,15 )

Selain nDNA yang seringkali lebih dikenal dengan istilah DNA, pada tahun 1981 ditemukan mitokondrial DNA ( mtDNA ), yaitu DNA yang terdapat pada sitoplasma mitokondria, merupakan molekul yang berbentuk melingkar, *double*

*helix*, dan berukuran 16.569 pasang basa. DNA mitokondria mengkode 2 rRNA, 22 tRNA dan 13 protein yang berfungsi dalam rantai respirasi. Setiap sel mempunyai 1000 hingga 10.000 copy mtDNA, sehingga mtDNA dapat ditemukan pada sampel yang sangat sedikit. (16,17,18)

Salah satu keunikan mtDNA ialah pada area *Displacement Loop* (D-loop) yang mempunyai tingkat polimorfisme yang tinggi, yang berbeda untuk tiap individu, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi personal, terutama identifikasi personal dimana sampelnya sedikit dan pada periode yang lama, misalnya dari urin simpan, pecahan gigi, serpihan tulang, jaringan yang sudah hancur dan air liur yang tertempel pada amplop, perangko atau batang rokok. (16,17)

Pemeriksaan mtDNA urin dilakukan pada ekstrak DNA dari urin probandus yang telah dikemihkan sebelumnya. Ekstrak DNA urin kemudian diproses dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan primer mtDNA untuk menggandakan rantai mtDNA, dilanjutkan proses elektroforesis gel untuk dibandingkan kesesuaian pembentukan *band* (pita DNA) dengan mtDNA darah. Apabila diperlukan pemeriksaan mtDNA dapat dilanjutkan dengan proses *Southern Blotting* dan *sequencing*. (1,15)

Dalam penelitian ini akan dibandingkan keberhasilan pemeriksaan mtDNA pada urin yang telah tersimpan 24 jam (urin simpan) dibandingkan pemeriksaan mtDNA pada darah (*whole blood*) segar.

## **1.2. PERUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah terdapat perbedaan keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin simpan dibandingkan pemeriksaan mtDNA darah ?

## **1.3. TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1. Tujuan umum :**

Untuk mengetahui perbedaan keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin simpan dibandingkan pemeriksaan mtDNA darah

### **1.3.2. Tujuan khusus :**

1. Untuk mengetahui perbedaan jumlah hasil ekstraksi mtDNA urin simpan dibanding mtDNA darah.
2. Untuk mengetahui perbedaan keberhasilan elektroforesis gel mtDNA urin simpan dibanding mtDNA darah.

## **1.4. MANFAAT PENELITIAN**

### **1.4.1. Bagi pengembangan ilmu pengetahuan**

Hasil penelitian dapat dipakai sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang identifikasi personal menggunakan mtDNA pada sampel urin.

### **1.4.2. Bagi kepentingan masyarakat**

Hasil penelitian ini dapat memberikan masukan bagi instansi/ lembaga yang berwenang melakukan tes urin, tentang manfaat identifikasi personal menggunakan mtDNA urin untuk mencegah penolakan hasil pemeriksaan dan kepemilikan urin.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Identifikasi personal

Identifikasi personal dapat berarti upaya pembedaan individu satu dengan individu lainnya atau upaya untuk menentukan kepemilikan bagian tubuh, cairan tubuh, atau bagian-bagian tubuh yang lain yang baik yang masih bagus maupun yang sudah rusak bahkan yang sudah hancur sekalipun terhadap si empunya. (1,2)

Menentukan identitas atau jati diri atas seseorang korban tindak pidana relatif lebih mudah bila dibandingkan dengan penentuan jati diri pelaku tindak kejahatan. Hal tersebut oleh karena pada penentuan jati diri tersangka pelaku kejahatan semata mata didasarkan pada metode visuil, yang sudah tentu banyak faktor-faktor yang mempengaruhi, sehingga hasil yang dicapai terkadang tidak memenuhi harapan. (2)

Identifikasi personal pada dasarnya dapat dibedakan menjadi dua, yaitu identifikasi personal dengan metode konvensional dan metode modern. (1,2,4,6)

Identifikasi personal secara konvensional dikenal berbagai cara, yaitu : (2,21,22,23,24)

1. Metode visuil, yaitu dengan memperhatikan korban secara cermat, terutama wajah, dapat dilakukan oleh orang yang mengenali korban.

2. Pakaian, yaitu pencatatan yang teliti atas pakaian, bahan yang dipakai, mode serta adanya tulisan di pakaian, seperti : merk, penjahit, dan lain sebagainya.
3. Perhiasan, dapat berupa anting-anting, kalung, gelang, serta cincin yang ada pada tubuh korban, khususnya bila pada perhiasan-perhiasan tersebut terdapat inisialnya.
4. Dokumen, dapat berupa Kartu Tanda Penduduk ( KTP ), Surat Ijin Mengemudi ( SIM ), paspor, kartu golongan darah, tanda pembayaran dan lain sebagainya.
5. Medis, yaitu pemeriksaan fisik secara keseluruhan, yang meliputi bentuk tubuh, tinggi dan berat badan, jenis kelamin, cacat tubuh, atau ciri fisik tertentu, seperti tato, jaringan parut dan sebagainya.
6. Gigi, bentuk gigi dan bentuk rahang merupakan ciri khusus dari seseorang, sedemikian khususnya sehingga dapat dikatakan tidak ada gigi atau rahang yang identik pada dua orang yang berbeda, bahkan pada kembar identik sekalipun.
7. Tulang, yaitu pemeriksaan tulang pada sisa tubuh yang sangat membusuk atau telah membusuk sempurna sehingga tinggal tersisa tulang belulang. Pemeriksaan tulang dapat menentukan jenis kelamin seseorang, perkiraan ras, usia , tinggi badan dan berat badan serta cedera tulang yang dialami orang tersebut
8. Sidik jari, dapat dikatakan juga bahwa tidak ada dua orang yang mempunyai sidik jari yang sama, walaupun kedua orang tersebut

kembar identik, sehingga sidik jari mempunyai nilai yang sangat tinggi untuk penentuan identitas seseorang.

9. Serologi, penentuan golongan darah yang diambil baik dari tubuh korban atau pelaku, maupun bercak darah yang terdapat di tempat kejadian perkara.
10. Eksklusi, metode ini pada umumnya hanya dipakai pada kasus dimana banyak terdapat korban (kecelakaan massal), seperti ledakan pesawat, tabrakan kereta api, dan lain-lain.

Identifikasi personal dengan cara modern ialah dengan menggunakan kode kode genetik (DNA) seseorang. Dasar ilmiah dari pemeriksaan ini ialah bahwa setiap individu, kecuali kembar identik, mempunyai DNA yang berbeda dan unik. Teknik identifikasi personal menggunakan DNA tersebut dikembangkan sejak tahun 1970 sejak ditemukannya enzim restriksi yang dapat memotong DNA menjadi beberapa fragmen pasang basa pada titik yang dikehendaki, fragmen tersebut kemudian diperiksa menggunakan teknik elektroforesis gel. Gambaran pita DNA sampel kemudian dibandingkan dengan *marker* (DNA yang sudah diketahui ukuran pasang basanya) dan *probe* (template radioisotop yang telah diketahui urutan basanya).<sup>(25)</sup>

Pada tahun 1985, Alec Jeffreys dkk dari Universitas Leicester menyebut teknik identifikasi personal tersebut sebagai *DNA fingerprinting*. Istilah *DNA fingerprinting* tersebut digunakan karena DNA setiap individu adalah unik dan khas, sebagaimana sidik jari untuk identifikasi personal. Istilah *DNA typing* atau identifikasi DNA sebenarnya merupakan istilah yang lebih tepat

dibandingkan *DNA fingerprinting* atau *DNA profiling*, akan tetapi istilah tersebut sama saja dan penggunaan istilah tersebut bervariasi tergantung pada preferensi seseorang. <sup>(25)</sup>

Terdapat paling tidak lima teknik forensik berbeda yang digunakan untuk *DNA fingerprinting* : <sup>(25,26)</sup>

1. RFLP (Restriction Fragment Length Polimorphism)

Teknik pertama yang mengadopsi teknik analisis DNA forensik adalah RFLP. Pada teknik ini DNA secara kimiawi dipotong menjadi beberapa fragmen, diletakkan pada gel yang mengandung arus listrik sehingga DNA ( yang bermuatan negatif ) akan bergerak ke arah muatan positif berdasar ukuran atau pasang basa DNA. Kemudian DNA ditransfer pada membran nylon dan ditambahkan probe DNA radio aktif yang akan terikat pada sequence DNA yang sesuai. Sebuah film X-ray diletakkan pada membran. Pada saat film diproses maka akan tampak pola band / pita yang disebut sebagai autoradiogram / autorad.

Kekurangan teknik ini karena harus membutuhkan DNA segar yang relatif banyak. Untuk memproses film X-ray kira-kira membutuhkan waktu satu minggu.

2. PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR merupakan suatu metoda sintesis DNA secara *in vitro*. Prinsipnya sama dengan sintesis DNA secara *in vivo* (kloning), tetapi menggunakan dua buah primer yang masing-masing komplementer terhadap kedua untai DNA yang berlawanan. Dengan PCR satu molekul DNA dapat



diperbanyak atau diamplifikasi sehingga diperoleh hasil akhir berupa sebuah fragmen DNA dengan ukuran tertentu yang dapat diamati dengan jelas dalam elektroforesis gel agarosa. PCR merupakan metoda yang cepat untuk memperbanyak satu segmen DNA, sangat selektif, sehingga tidak diperlukan langkah pemurnian DNA sebelumnya. Hasil amplifikasi  $10^6 - 10^8$  kali lebih banyak jika dibandingkan dengan konsentrasi awalnya (26,27)

Tehnik PCR sangat sensitif dan dapat menganalisis sampel DNA hingga 1 ng ( 1 nanogram=1/1000.000.000 gram ), akan tetapi sampel forensik minimal untuk hasil optimal ialah 2-8 ng. (27)

### 3. VNTR / STR (Variable Number Short of Tandem Repeats)

Metode ini menggunakan marker yang pendek, mengulang pola allele pada segmen mikrovarian antara 3 – 7 pasang basa.

### 4. Mitochondrial DNA (mtDNA)

Merupakan tipe PCR yang menggunakan *primer* dari area *d-loop* mtDNA, terutama untuk mengidentifikasi korban perang atau sampel yang sangat sedikit, sudah lama dan mengalami degradasi. Juga dipakai pada kasus untuk mengetahui hubungan kekerabatan terutama dari garis ibu, karena mtDNA hanya diturunkan dari garis ibu.

### 5. Rapid DNA ID Microchip-Based Genetic Detectors.

Tehnik ini menggunakan piranti lunak / perangkat komputer untuk mendeteksi sebuah pola dari tindak kejahatan. Sebenarnya sama dengan perangkat lunak yang digunakan untuk mendeteksi adanya kelainan

genetik seseorang, tetapi sudah dimodifikasi dengan pemberian *marker* untuk identifikasi personal. <sup>(22)</sup>

## 2.2. DNA mitokondrial

### 2.2.1 Struktur mtDNA

Selain genom yang terletak di inti, manusia memiliki DNA lain yang terdapat dalam sitoplasma yaitu terletak di dalam mitokondria. Jumlah DNA mitokondria (mtDNA) biasanya kurang dari 0,1% dari semua DNA sel yang terdapat di dalam organel mitokondria. mtDNA merupakan molekul yang amat kecil dibandingkan dengan kromosom inti. Mitokondria memiliki sistem genetik yang berbeda dengan sistem genetik inti dan terdapat pada bagian matrik mitokondria. Setiap mitokondria memiliki dua sampai enam *copy* mtDNA. <sup>(16,17,18)</sup>

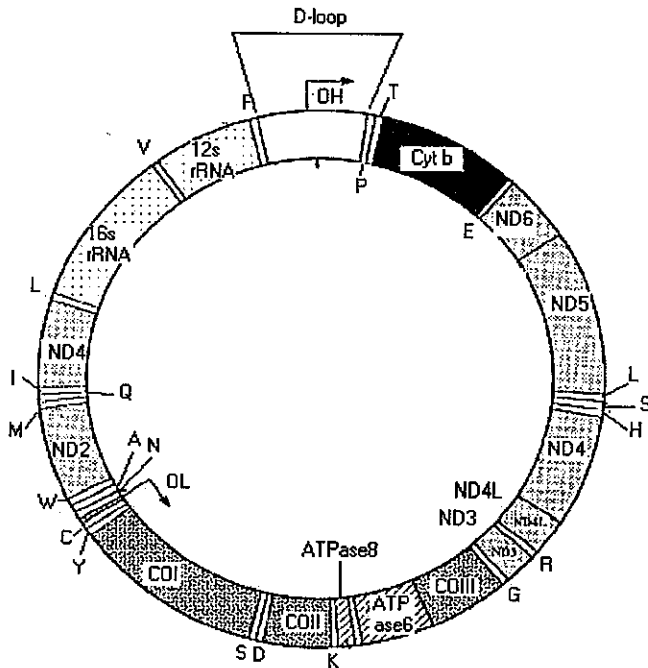
Mitokondrial DNA (mtDNA) merupakan DNA beruntai ganda berbentuk lingkaran tertutup yang telah diketahui urutan nukleotidanya secara lengkap. MtDNA yang berukuran 16.569 pb ( pasang basa ), padat gen dan hampir tidak mempunyai intron mengandung 37 gen yang menyandi 13 polipeptida yang menyusun protein kompleks rantai respirasi, 22 tRNA dan 2 rRNA yang diperlukan untuk proses sintesis protein mitokondria. Di samping itu terdapat pula suatu daerah kontrol yang tidak menyandi protein ( *non coding region* ) yang disebut sebagai displacement loop ( D-loop ) sepanjang 1122 pb. D-loop merupakan daerah kontrol utama ekspresi mtDNA, selain berfungsi sebagai *leading strand replication* serta promotor utama untuk transkripsi <sup>( 28,29 )</sup>

mtDNA terdiri atas 2 untai molekul yang saling berbentuk heliks yaitu untai H (Heavy), kaya akan nukleotida G dan untai L (Light), kaya akan nukleotida C. Komposisi nukleotida untai L adalah 24,7% T, 30,9% A ( 55,6% AT) dan 31,2% C, 13,1% G (44,3% GC).<sup>(28)</sup>

Pada untai H dikode gen-gen : 12S rRNA; 16S rRNA; tRNA untuk asam amino fenilalanin, valin, leusin (UUR), isoleusin, metionin, triptofan, asam aspartat, lisin, glisin, histidin, serin (AGY), leusin (CUN), treonin, sitokrom b; dan kompleks 1 (NADH ubiquinon oksidoreduktase (ND)) subunit 1,2,3,4,4L dan 5. Pada untai L mengkode gen-gen tRNA untuk asam amino glutamin, alanin, asparagin, sistein, tirosin, serin (UCN), asam glutamat, prolin, dan kompleks 1 subunit 6.<sup>(28,30,31)</sup>

Gambar 1. MtDNA dan daerah kontrol ( D-loop ) <sup>(29)</sup>

Gambar 1. Peta gen pada mtDNA manusia. mtDNA terdiri atas 16.596 pb, nomor dimulai dari *Ori* rantai-H (OH) mengelilingi peta sirkuler berlawanan arah jarum jam. *Ori* rantai-L (OL). Gen tRNA ditunjukkan dengan huruf asam amino. ND = gen-gen NADH dehidrogenase, Cyt b = gen-gen ubiquinol sitokrom oksireduktase, CO = gen-gen sitokrom oksidase, ATPase = gen-gen ATP sintase, rRNA = gen-gen rRNA, tRNA = gen-gen tRNA <sup>(16)</sup>



mtDNA memiliki laju mutasi yang jauh lebih tinggi ( 5 – 10 kali ) dibandingkan dengan DNA inti sel sehingga memiliki kemampuan diskriminasi yang tinggi. Hal ini disebabkan MtDNA memiliki mekanisme respirasi yang terbatas, tidak mempunyai protein histon sebagai pelindung dan memiliki kandungan radikal bebas yang tinggi <sup>(32)</sup>

Perbedaan sifat antara nDNA dan mtDNA dapat dilihat pada tabel 1. <sup>(18)</sup>

Tabel 1. Perbedaan nDNA dan mtDNA manusia

Karakteristik	DNA inti	DNA mitokondria
Ukuran	3 milyar pb	16.569 pb
Kopi / sel	2	Bisa > 1000
Struktur	Linier, dikemas dalam kromosom	Sirkuler
Penurunan	Paternal dan maternal	Maternal
Rekombinasi	Ya	Tidak
Laju mutasi	Rendah	5 – 10 kali inti
Sekuens	Human Genome Project (2002)	Anderson et al 1981

### 2.2.2. mtDNA untuk identifikasi personal

Salah satu keunikan mtDNA - yaitu memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi - dapat digunakan untuk mengetahui hubungan antar individu atau hubungan maternal. Pada daerah D-loop terdapat dua daerah hipervariabel dimana derajat keragaman daerah tersebut antar individu yang tidak memiliki hubungan kekerabatan cukup tinggi. Oleh karenanya, dalam penentuan identitas seseorang dapat hanya menggunakan daerah D-loop saja. Apabila tidak terdapat mutasi baru pada mtDNA maka urutan mtDNA individu-individu yang mempunyai

hubungan keluarga secara maternal, seperti saudara kandung laki-laki dan perempuan atau ibu dan anak perempuan akan tepat sama. Hal ini sangat mempermudah dalam penyelidikan kasus-kasus orang hilang. Hal ini juga sangat berguna bagi keperluan forensik. Laboratorium Federal Bureau of Investigation Amerika telah melakukan analisis mtDNA sebagai alat penentuan identitas manusia sejak akhir tahun 1980. Pada tahun 1992, laboratorium penelitian ini juga telah menggunakan sekuensing mtDNA bagi kasus-kasus forensik. Setelah itu, pengujian terhadap sampel-sampel yang merupakan barang bukti suatu tindak kejahatan telah mulai dilakukan pada bulan Juni 1996 . (18,27,31)

Penelitian-penelitian tersebut cenderung menggunakan analisis mtDNA daripada DNA inti (nDNA) disebabkan di dalam suatu sel terdapat ratusan hingga ribuan mitokondria dan masing-masing mitokondria dapat mengandung beberapa *copy* mtDNA. Sedangkan dalam suatu sel hanya terdapat sebuah inti sel yang mengandung 2 set kromosom, yaitu satu set paternal dan satu set maternal, yang mana masing-masing terdiri dari 23 kromosom. Walaupun nDNA memiliki jumlah basa yang lebih banyak daripada mtDNA, tetapi dalam mtDNA terdapat jumlah *copy* yang jauh lebih banyak daripada nDNA. Oleh karenanya karakteristik mtDNA ini berguna bagi sampel dengan jumlah DNA yang sangat sedikit, seperti sampel-sampel yang diambil dari kasus kriminalitas yaitu rambut, tulang, gigi, dan cairan tubuh (air liur, air mani, darah, urin). (18,27)

Pada laboratorium Identifikasi DNA Angkatan Bersenjata Amerika (The Armed Force DNA Identification Laboratory, AFDIL) telah menggunakan analisis mtDNA untuk mengidentifikasi manusia dari konflik militer di Asia Tenggara,

Korea, dan Perang Dunia II [Wadhams, 1989]. Telah dilakukan juga analisis mtDNA terhadap kerangka serdadu Amerika yang meninggal pada perang Vietnam. Hasil analisis ini dapat digunakan untuk identifikasi manusia. <sup>(30)</sup>

### **2.3. mtDNA darah**

Ada berbagai macam alasan mengapa darah lebih sering dipakai sebagai sumber DNA terutama dalam bidang forensik. Diantaranya adalah darah merupakan spesimen yang relatif paling sering ditemukan di TKP dibanding spesimen lain. Pengambilan dan pengiriman sampel serta teknik ekstraksi DNA dari darah juga relatif lebih mudah. Pemeriksaan mtDNA darah memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi, sehingga digunakan sebagai pembandingan pemeriksaan mtDNA dari sampel lainnya (sperma, air liur, urin dan lain-lain). <sup>(31)</sup>

Sampel darah untuk pemeriksaan mtDNA antara lain ialah bercak darah dan darah segar (*whole blood*). Dalam *whole-blood* terdapat sel darah merah, sel darah putih, dan plasma. mtDNA dapat diekstraksi dari sel darah merah yang tidak berinti, karena mtDNA itu sendiri tersimpan dalam sitoplasma. Yang menjadi sumber mtDNA *whole- blood* adalah sel darah merah dan sel darah putih.

### **2.4. mtDNA urin**

#### **2.4.1 Asal dan pengambilan sampel mtDNA urin**

DNA urin berasal dari sel-sel yang dieksresikan lewat ginjal dan saluran kemih. Sel tersebut ialah sel darah merah, sel darah putih, sel epitel dan silinder (cast) sel darah merah, silinder sel darah putih atau silinder epitel).

Sel darah merah secara normal terdapat 3-12 sel /  $\mu$ l urin. Urin dengan pH asam dan urin hipotonik akan menyebabkan sel darah merah lisis.

Sel darah putih pada sedimen urin antara lain netrofil, eosinofil, limfosit, monosit dan makrofag. Sel netrofil merupakan sel darah putih yang paling sering dijumpai pada urin. Secara normal, terdapat 5 – 30 neutrofil /  $\mu$ l urin. Urin hipotonik menyebabkan sel lekosit membengkak, berbentuk sferis dan lisis. Pada suhu ruang 50 % lekosit akan mengalami lisis dalam jangka waktu 2-3 jam sejak dikemihkan. Sejumlah kecil sel epitel terdapat pada sedimen urin normal dan menggambarkan pelepasan sel –sel tua. Sel epitel squamous merupakan sel epitel yang paling sering dan paling besar yang dijumpai pada urin. Sel squamous pada wanita berasal dari saluran uretra sedangkan pada pria berasal dari bagian distal uretra. Sel epitel transisional berasal dari kaliks renal, pelvis renalis, ureter dan kandung kencing, dan bagian proksimal uretra pada pria. Sel epitel renal berasal dari tubulus renalis. <sup>(33,34)</sup>

Urin sewaktu dan pancaran rutin merupakan sampel urin yang paling sering digunakan pada screening, terutama pada screening obat-obatan / narkoba, karena merupakan jenis sampel yang paling mudah, nyaman, dapat diambil sewaktu-waktu dan tanpa persiapan tertentu. Sampel urin terbaik untuk pemeriksaan ialah urin segar, yaitu urin harus diperiksa 3 – 6 jam setelah dikemihkan. Apabila pemeriksaan ditunda, maka urin harus diawetkan. Bahan pengawet urin antara lain toluen, timol, formalin, asam sulfat pekat, asam klorida pekat, natrium karbonat, kloroform. Akan tetapi tidak ada satupun bahan pengawet yang tidak berpengaruh pada pemeriksaan urin. Cara pengawetan urin



yang paling mudah, paling sering digunakan dan dapat digunakan pada semua jenis pemeriksaan urin ialah dengan menyimpan urin pada suhu 4 – 6° C (suhu pada lemari es). Penyimpanan pada suhu 4 – 6° C tersebut akan mencegah proliferasi bakteri dan sampel urin masih dapat digunakan untuk kultur tanpa kontaminasi bakteri hingga 24 jam setelah urin dikemihkan. <sup>(34)</sup>

#### **2. 4. 2. Pemeriksaan mtDNA urin**

Pemeriksaan mtDNA urin pada urin merupakan pemeriksaan terpilih karena jumlah sel yang terdapat dalam urin sangat sedikit, sehingga DNA yang diekstraksipun sangat minimal.

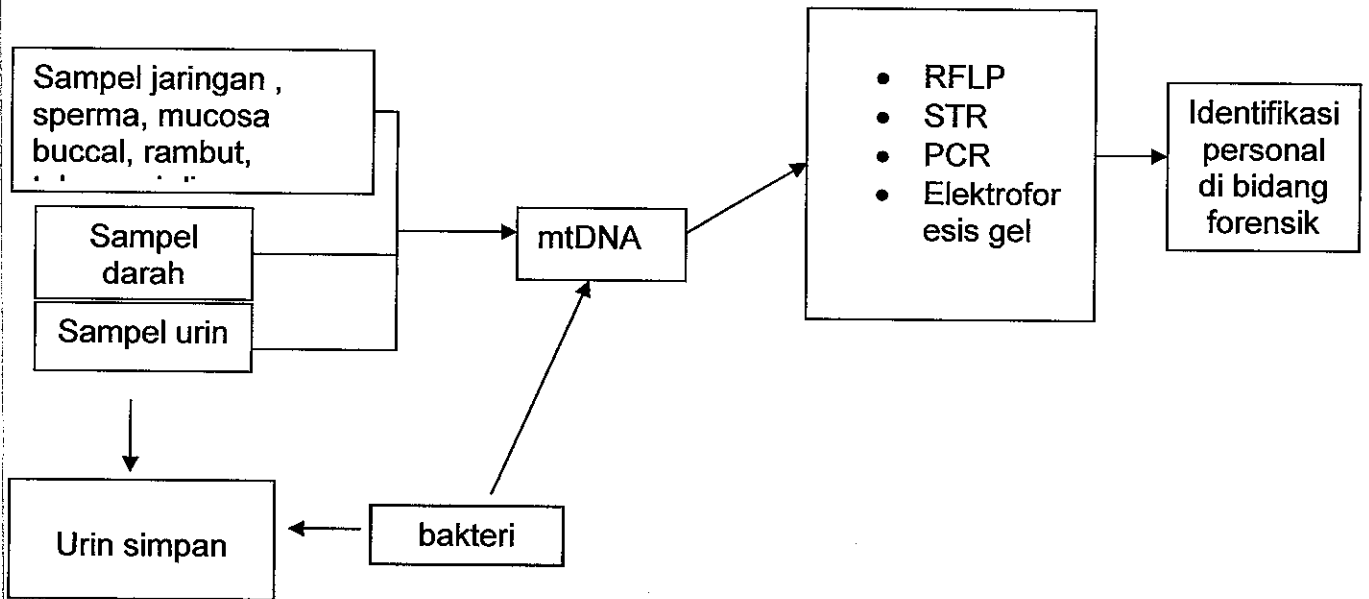
Pemeriksaan mtDNA urin digunakan pada sampel positif pada kasus pemeriksaan doping dan tuduhan manipulasi atau penukaran sampel. Junge dkk (2003) dalam penelitiannya menemukan pada kasus penolakan atlit atas kecurigaan kasus doping nandrolon, mtDNA dari urin yang telah tersimpan selama 9 bulan pada suhu -20°C ternyata dapat diidentifikasi dan cocok dengan mtDNA darah atlit yang dicurigai tersebut. Pemeriksaan nDNA urin pada kasus tersebut mengalami kegagalan. <sup>(9,13,15,35)</sup>

Pemeriksaan mtDNA urin menggunakan primer area d-loop pada mtDNA, yaitu pada area HVR I dan HVR II yang memiliki tingkat polimorfisme paling tinggi. Marker DNA yang digunakan pada elektroforesis gel menggunakan fragmen DNA dengan pasang basa kecil, yaitu 70 – 200 bp, karena DNA pada sampel urin, terutama urin simpan, pada umumnya telah mengalami fragmentasi. <sup>(9,15)</sup>

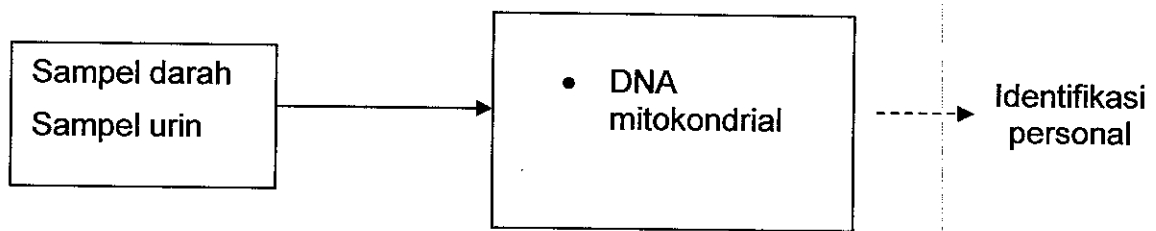
## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka teori



### 3.2 Kerangka konseptual



### 3.3 Hipotesis

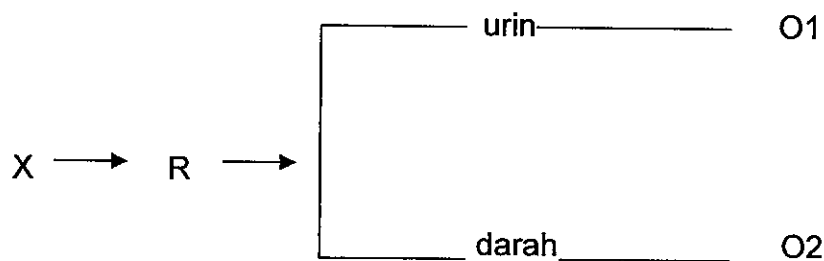
Keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin simpan lebih rendah dibandingkan pemeriksaan mtDNA darah.

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1. Desain penelitian

Penelitian ini adalah penelitian cross sectional analitik.



#### 4. 2. Populasi dan sampel

##### 4.2.1. Populasi

Populasi penelitian adalah orang yang melakukan tes urin di bagian Forensik Fakultas Kedokteran UNDIP

##### 4.2.2. Sampel

###### 4.2.2.1. Besar sampel

Besar sampel dihitung berdasarkan perhitungan besar sampel untuk 2 mean, dengan rumus :

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta)S}{(X_1 - X_2)} \right]^2$$

Dimana :

$n_1 = n_2$  = jumlah sampel pada tiap kelompok

S = simpang baku

$X_1 - X_2$  = perbedaan klinis yang diinginkan

$\alpha$  = tingkat kemaknaan

$\beta$  = power penelitian

Bila diterima tingkat kemaknaan ( $\alpha$ ) = 0,05 dan kemungkinan mendeteksi perbedaan ( power ) sebesar 80%, simpang baku 15, dan perbedaan klinis yang diinginkan sebesar 20, maka :

$$n = 2 \left[ \frac{(1,96 + 1,282) \times 15}{20} \right]^2$$

$$n = 12$$

Sehingga jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok ialah 12

#### 4.2.2.2. Cara pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik ***systematic sampling***.

### **4.3. Variabel penelitian dan definisinya**

#### **4.3.1. Variabel bebas**

Variabel bebas adalah mtDNA

Definisi operasional :

mtDNA adalah kuantitas dan kualitas mitokondrial DNA setelah proses ekstraksi DNA dan elektroforesis gel

Kuantitas mtDNA diukur menggunakan spektrofotometer

Kualitas mtDNA diukur menggunakan gambaran visual pita/band mtDNA pada gel yang didokumentasikan pada kamera dengan filter Ultra Violet

Unit pengukuran :

Kuantitas mtDNA : nanogram

Kualitas mtDNA : gambaran pita / band DNA (+ / -)

Skala data :

Kuantitas mtDNA : skala ratio

Kualitas mtDNA : skala nominal

#### **4.3.2. Variabel tergantung**

Variabel tergantung adalah sampel urin simpan dan sampel darah.

Definisi operasional :

- Sampel urin simpan adalah sampel urin yang dikemihkan oleh subyek penelitian di laboratorium Forensik FK UNDIP (urin sewaktu), disimpan selama 24 jam sejak dikemihkan, pada suhu 4°C

- Sampel darah adalah darah (whole blood) segar dari subyek penelitian

Skala data : nominal

#### **4.4. Hipotesis penelitian**

Keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin simpan lebih rendah dibandingkan pemeriksaan mtDNA darah

#### **4.5. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilakukan di bagian Forensik FK UNDIP Semarang, laboratorium PAU UGM Yogyakarta dan laboratorium Lembaga Molekuler Eijkman Jakarta.

Lama Penelitian 6 bulan.

#### **4.6. Bahan penelitian**

Bahan penelitian ialah urin simpan dan darah (whole blood)

Kriteria inklusi :

- \* Subyek bersedia berpartisipasi dalam penelitian

Kriteria eksklusi :

- \* Terdapat bakteri urin pada pemeriksaan mikroskopis.

#### **4.7. Alat / instrumen penelitian :**

- Alat pengambilan sampel urin : falcon tube 50 ml
- Alat pengambilan darah vena : dispossable spuit 3 ml, manset, tabung EDTA
- Refrigerator Toshiba model

- Sterilisator : Autoclave, Electric Pressure steam sterilizer model no. 25X (American) ; Laminar flow (Labconco Co, Kansas City)
- Inkubator model Grant LTD6 (Grant, MullerScherr, Cambridge, England)
- Centrifuge model 5415C (Eppendorf, Germany)
- Microcentrifuge model 5417R (Eppendorf, Germany)
- Spektrofotometer model SP237 (Heraeus, Germany)
- Mesin PCR system 2400 Gene Amp (Perkin Elmer)
- Alat elektroforesi gel model EC250-90E-C (Apparatus Corporation)
- Lampu dan kamera UV model R-526 (Gabriel, USA)

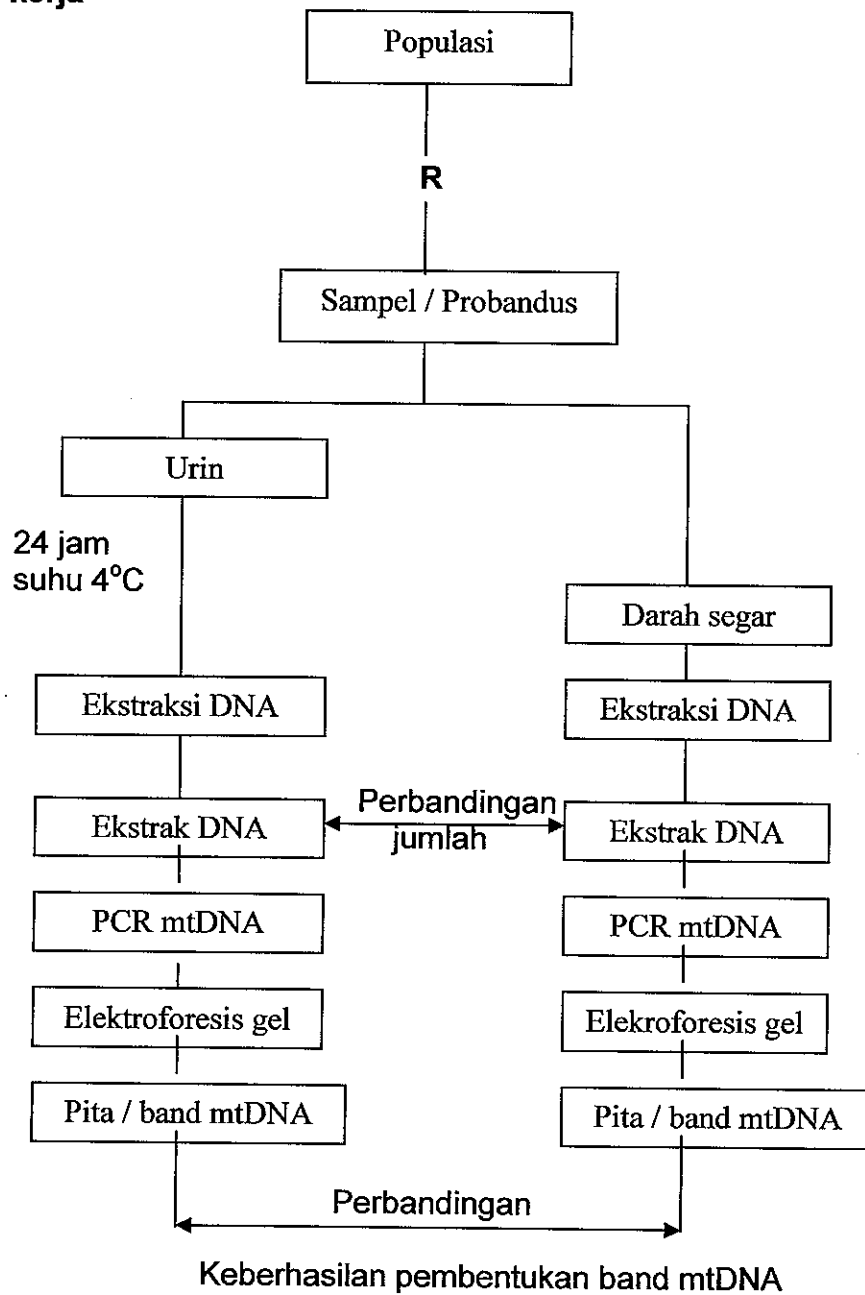
#### **4.8. Prosedur pengumpulan data**

- Subyek yang melakukan pemeriksaan urin di laboratorium Forensik FK UNDIP yang bersedia berpartisipasi dalam penelitian diminta menandatangani blanko kesediaan.
- Setelah randomisasi, dilakukan pengambilan sampel darah dan urin dari 15 subyek penelitian. Darah ditampung pada tabung EDTA. Urin ditampung dalam *falcon tube* 50 ml dan disimpan 24 jam pada suhu 4°C
- Ekstraksi DNA darah dilakukan di laboratorium PAU UGM
- Hasil ekstraksi DNA darah diukur kuantitasnya menggunakan spektrofotometer, data yang diperoleh ditabulasi.
- Ekstrak DNA kemudian disimpan pada suhu -20°C



- Ekstraksi DNA urin simpan dilakukan di laboratorium PAU UGM
- Hasil ekstraksi DNA urin simpan diukur kuantitasnya menggunakan spektrofotometer, data yang diperoleh ditabulasi.
- Ekstrak DNA urin simpan kemudian disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$
- Proses PCR dan elektroforesis DNA urin simpan dan DNA darah dilakukan di lembaga Biomolekuler Eijkman, Jakarta.
- Gambaran band / pita nDNA urin simpan dan darah didokumentasikan menggunakan kamera UV
- Dilakukan perbandingan keberhasilan pembentukan band / pita nDNA urin simpan dan darah.

#### 4.9. Alur kerja



#### 4.10. Analisis Data

Pengolahan dan analisis data secara univariat dan bivariat dilakukan dengan bantuan komputer yaitu dengan menggunakan program SPSS for Windows versi 10.0.

Data yang sudah terolah kemudian dianalisis secara diskriptif dan analitik sesuai dengan tujuan penelitian :

1. Data yang berupa hasil pemeriksaan mtDNA dari sampel urin dan darah dimasukkan ke dalam file komputer. Setelah dilakukan *cleaning* maka dibuat analisis diskriptif yaitu diskripsi ada tidaknya pembentukan pita (*band*) antara sampel urin dan darah pada pemeriksaan mtDNA
2. Untuk melihat kesesuaian pembentukan pita (*band*) antara sampel urin dan darah mtDNA maka dilakukan analisis uji kappa untuk melihat reliabilitasnya, disajikan dalam bentuk tabel silang 2 X 2. Untuk melihat perbedaan pembentukan pita (*band*) antara mtDNA urin dengan mDNA darah dilakukan dengan uji Mc. Nemar

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. GAMBARAN UMUM

Penelitian dilakukan di bagian Forensik FK UNDIP Semarang, laboratorium PAU UGM Yogyakarta . Lama Penelitian 6 bulan.

#### 5.2. HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil ekstraksi darah yang telah dilakukan pemeriksaan DNA mitokondrial dan DNA inti pada darah maka diperoleh hasil sebagai berikut :

##### 5. 2. 1 Analisa Univariat

Analisa univariate dilakukan secara terpisah terhadap sampel darah dan urin yang telah diperiksa DNA mitokondria-nya. Hasil analisa univariate disajikan dalam tabel distribusi frekuensi.

##### a. Hasil Pemeriksaan DNA Mitokondria Darah

Hasil Pemeriksaan laboratorium DNA Mitokondrial Darah dinyatakan sebagai positif (bila terbentuk pita / band) atau negatif (bila tidak terbentuk pita / band). Hasilnya ditampilkan dalam tabel di bawah ini :

Tabel 2

Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan DNA Mitokondria Darah

Hasil Pemeriksaan DNA Mitokondria Darah	f	Prosentase (%)
Positif	12	100, 0

Dari tabel 2 terlihat bahwa pemeriksaan DNA mitokondrial darah 100% dinyatakan positif atau terbukti adanya **pembentukan band / pita pada darah.**

b. Hasil Pemeriksaan DNA Mitokondrial Urin

Hasil Pemeriksaan laboratorium DNA Mitokondrial Urin dinyatakan sebagai positif (bila terbentuk pita / band) atau negatif (bila tidak terbentuk pita / band). Hasilnya ditampilkan dalam tabel di bawah ini :

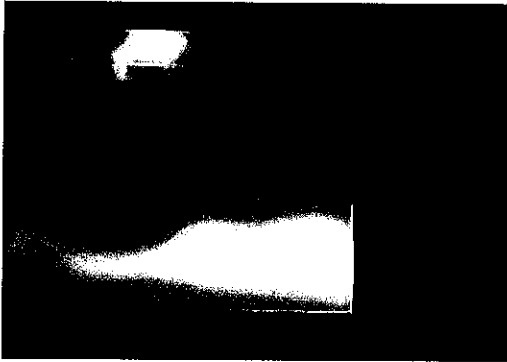
Tabel 3

Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan DNA Mitokondrial Urin

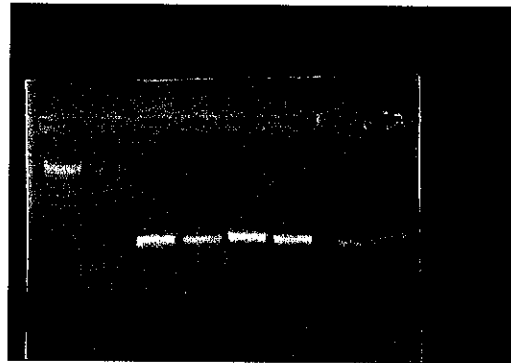
Hasil Pemeriksaan DNA Mitokondrial Urin	f	Prosentase (%)
Negatif	2	16,7
Positif	10	83,3
Total	12	100,0

Tabel 3 menunjukkan bahwa sebesar 83,3% sampel dinyatakan positif pada pemeriksaan mitokondrial urin, sedangkan sisanya sebesar 16,7% dinyatakan negatif.

Gambar 2 dan 3  
Pita / Bands mtDNA darah



Gamb. 2



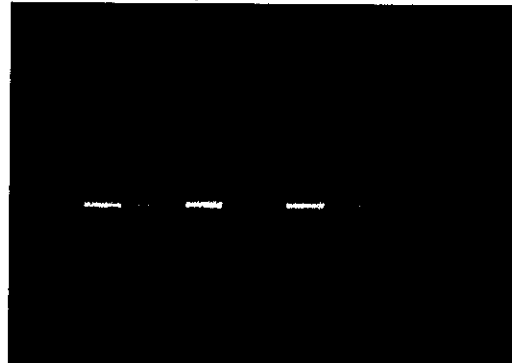
Gamb. 3

Gambar 2 dan 3 menunjukkan hasil pemeriksaan mtDNA darah yang dielektroforesis pada agarose 1% dan didokumentasikan dengan kamera UV. Dari 12 sampel yang diperiksa semuanya menunjukkan hasil yang positif (100 %)

Gambar 4 dan 5  
Pita / Bands mtDNA Urin simpan



Gamb. 4



Gamb. 5

Gambar 4 dan 5 menunjukkan hasil pemeriksaan mtDNA urin simpan yang dielektroforesis pada gel agarose 1% dan didokumentasikan dengan kamera UV. Dari 12 sampel yang diperiksa 10 diantaranya menunjukkan hasil yang positif ( 83,3 % )

## 5.2. 2 Analisa bivariante

Analisa bivariante merupakan tindak lanjut hasil analisa univariate, dilakukan terhadap hasil pemeriksaan DNA mitokondrial darah dan DNA mitokondrial urin yang disajikan dalam tabel silang 2 x 2.

### a. Distribusi silang Hasil Pemeriksaan DNA mitokondrial Darah dengan DNA Mitokondrial Urin

Hasil Pemeriksaan DNA mitokondrial Darah dengan DNA Mitokondrial Urin diuji dalam bentuk tabel silang. Hasilnya digambarkan dalam tabel di bawah ini :

Tabel 4

Distribusi Silang Hasil Pemeriksaan DNA mitokondrial Darah dengan DNA Mitokondrial Urin

		mt dna urin		Total
		positif	negatif	
mt dna darah	positif	10 83,3%	2 16,7%	12 100,0%
Total		10 83,3%	2 16,7%	12 100,0%

Dari tabel 4 terlihat bahwa rasio keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin terhadap pemeriksaan mtDNA darah sebesar 83,3%. Karena nilai mtDNA darah bersifat konstan (100% positif) maka tabel silang yang tersaji berukuran 2 X 1.

- b. Beda keberhasilan pemeriksaan Mitokondrial urin dengan mitokondrial darah

Tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial urin dengan mitokondrial darah bisa diketahui dengan membandingkan hasil positif mitokondrial urin dengan hasil positif mitokondrial darah. Tingkat keberhasilan (dalam prosentase) ditampilkan dalam tabel di bawah ini :

Tabel 5  
Perbandingan keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin  
dengan mt DNA Darah

	Prosentase (%)
Positif mtDNA urin / positif mtDNA darah	83,3

Tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial urin dengan mitokondrial darah adalah sebesar 83,3%.  
(Tabel 5)

### 5.2. 3. Analisa lanjut

Untuk membuktikan hipotesis penelitian, analisa lanjut dilakukan melalui uji Mc Nemar. Dengan uji Mc Nemar diperoleh *p value* sebesar 0,5. Sehingga hipotesis penelitian terbukti ditolak.



### **5.3. PEMBAHASAN**

Jumlah sampel dalam penelitian ini sebanyak 12 orang. Sampel urin dan darah diambil di laboratorium forensik FK UNDIP Semarang, kemudian diteliti di laboratorium PAU UGM Yogyakarta.

Berdasarkan hasil penelitian pemeriksaan mitokondrial DNA darah dan mitokondrial DNA Urin diperoleh hasil bahwa :

#### **5.3.1. Pemeriksaan mitokondrial DNA Darah**

Sebesar 100% darah yang diperiksa dinyatakan positif mitokondrial DNA. Memang pemeriksaan mtDNA darah memiliki tingkat keberhasilan tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai pembanding pemeriksaan mtDNA dari sampel lainnya <sup>31</sup>.

#### **5.3.2. Pemeriksaan mitokondrial DNA Urin**

Pada pemeriksaan mtDNA urin diperoleh hasil yang positif sebesar 83,3%. Kandungan jumlah sel yang terdapat dalam urin sangat sehingga DNA yang diekstraksipun sangat sedikit.

#### **5.3.3. Tingkat keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin dengan mtDNA darah**

Diperoleh hasil sebesar 83,3%, yang berarti bahwa keberhasilan pemeriksaan mtDNA urin : mtDNA darah adalah sebesar 83,3 : 100. Hasil ini sangat membuktikan bahwa pemeriksaan mtDNA darah memiliki tingkat keberhasilan tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai pembanding pemeriksaan mtDNA dari sampel lainnya <sup>31</sup>.

#### 5.3.4. Hasil uji Mc Nemar

- a. Berdasarkan uji Mc Nemar diperoleh nilai  $p$  ( $p$  value) sebesar 0,5. sehingga  $H_0$  diterima, dan  $H_a$  ditolak. Nilai  $p$  yang tidak signifikan ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara pemeriksaan DNA mitokondrial pada sampel darah dan sampel urin simpan. Hal tersebut berarti bahwa keberhasilan pemeriksaan DNA mitokondrial pada sampel urin mempunyai tingkat keberhasilan yang tinggi yang hampir menyamai tingkat keberhasilan pemeriksaan DNA mitokondrial pada sampel darah yang merupakan sampel referensi.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. KESIMPULAN**

- 6.1.1. Tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial DNA urin : mitokondrial DNA darah sebesar 83,3%. Sehingga dapat dinyatakan tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial DNA urin lebih rendah dibandingkan pemeriksaan mitokondrial DNA darah.
- 6.1.2 Dalam penelitian ini diperoleh nilai p yang tidak signifikan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara pemeriksaan mtDNA pada sampel darah maupun urin simpan.

#### **6.2. SARAN**

- 6.2.1. Untuk pemeriksaan mtDNA urin bisa digunakan sampel urin sebagai pengganti darah, hal ini karena pengambilan sampel urin lebih tidak invasif.
- 6.2.2. Pemeriksaan mtDNA urin selanjutnya dapat untuk mengetahui kepemilikan urin.

## BAB VII RINGKASAN

Identifikasi seseorang baik korban maupun pelaku pada berbagai kasus forensik, dapat menggunakan berbagai cara, yaitu cara konvensional dan modern. Cara konvensional yang biasa dipergunakan antara lain dengan metode visual, dari pakaian dan perhiasan yang dipakai, dokumen yang ada, gigi geligi, sidik jari atau metode eksklusi untuk kasus – kasus massal. Namun cara – cara tersebut seringkali belum bisa menjawab identifikasi seseorang ( baik korban atau pelaku ) secara memuaskan, terutama pada korban yang tidak beridentitas, jenazah yang membusuk lanjut, korban mutilasi, atau barang bukti lain yang sudah rusak.

Seiring dengan kemajuan ilmu biomolekuler, maka ilmu forensikpun berkembang dengan pesat. Sejak tahun 1984 berkembang cabang ilmu “ forensic DNA analysis “, yang memungkinkan identifikasi personal tidak hanya menggunakan cara-cara konvensional, tetapi juga menggunakan cara modern yaitu berdasar pada kode genetik ( DNA ).

Pemeriksaan identifikasi personal dengan menggunakan pemeriksaan DNA mempunyai keunggulan karena DNA bersifat lebih stabil dibanding metode petanda genetik konvensional ( misalnya golongan darah ), dan kode genetik DNA pada setiap individu pasti berbeda, kecuali pada kembar identik. .

Pemeriksaan DNA untuk kepentingan identifikasi personal yang lazim digunakan adalah pemeriksaan nuklear DNA ( nDNA ). Sampel yang paling

sering dipergunakan untuk pemeriksaan nDNA dalam proses identifikasi personal adalah sampel darah, karena teknik ekstraksi nDNA paling mudah dan mempunyai tingkat keberhasilan paling tinggi. Sampel pemeriksaan nDNA yang lain ialah dari akar rambut, kuku, jaringan tubuh, sperma dan air liur. Sampel yang jarang digunakan adalah urin, karena DNA yang dapat diekstraksi dari sampel urin sangat sedikit. .

Pemeriksaan nDNA dari sampel urin jarang dilakukan karena nDNA sulit teridentifikasi pada sampel yang sedikit atau sampel yang telah mengalami degradasi atau denaturasi protein. Hal ini dikarenakan hanya terdapat 2 copy nDNA pada setiap inti sel, sehingga nDNA sulit teridentifikasi pada sampel yang sangat sedikit.

Identifikasi personal dengan menggunakan sampel urin akhir-akhir ini mulai memegang peran cukup penting. Pada beberapa kasus doping dan pemeriksaan narkoba yang menggunakan sampel urin dengan hasil yang positif seringkali terjadi penyangkalan oleh pengguna ( probandus/ yang dicurigai ) bahwa urin yang dikemihkan bukan milik mereka atau urin tersebut tertukar. Pada kasus tersebut maka identifikasi personal untuk mengetahui kepemilikan urin dengan pemeriksaan DNA urin menjadi berperanan sangat penting.

Penelitian ini menggunakan metode penelitian cross-sectional dengan jumlah sampel masing-masing kelompok adalah 12 orang. Analisa univariate dilakukan secara terpisah terhadap sampel darah dan urin yang telah diperiksa DNA mitokondria-nya. Hasil analisa univariate disajikan dalam tabel distribusi frekuensi. Analisa bivariate merupakan tindak lanjut hasil analisa univariate,

dilakukan terhadap hasil pemeriksaan DNA mitokondrial darah dan DNA mitokondrial urin yang disajikan dalam tabel silang 2 x 2 dengan menggunakan uji McNemar.

Tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial DNA urin : mitokondrial DNA darah sebesar 83,3%. Sehingga dapat dinyatakan tingkat keberhasilan pemeriksaan mitokondrial DNA urin lebih rendah dibandingkan pemeriksaan mitokondrial DNA darah.

Dalam penelitian ini diperoleh nilai p yang tidak signifikan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara pemeriksaan mtDNA pada sampel darah maupun urin simpan.

Untuk pemeriksaan mtDNA urin bisa digunakan sampel urin sebagai pengganti darah, hal ini karena pengambilan sampel urin lebih tidak invasif. Pemeriksaan mtDNA urin selanjutnya dapat untuk mengetahui kepemilikan urin.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Rudin N, Inman K. The Natur of Physical Evidence. In: an Introduction to Forensic DNA Analysis 2<sup>nd</sup> ed. USA : CEC Press, 2002: 1-11.
2. Idries AM. Identifikasi dalam Pedoman Ilmu Kedokteran Forensik. Edisi pertama. Jakarta : Binarupa Aksara, 1997 : 31-52
3. Luftig MA, Richey S. DNA and Forensic Science. New England Law Review Vol. 35:3, 2001: 609-13.
4. Bickel P.J. Discussion of “ The Evaluation of Forensic DNA Evidence”. Proc.Natl.Acad.Sci, USA.Vol. 94, 1997:5497-1
5. Morgan JT, Hanley P, Sheinis LA. Medical Genetics. USA: McGraw-Hill, 1999.: 1-17.
6. Margaret A.B, Suzanne J, Miles N. Raising the Bar: The Impact of DNA Testing on the field of Forensic. Proc. Natl. Acad, USA. Vol. 68, 2001: 95-115.
7. Anonim. How is DNA Fingerprinting Done ?. 2004. <http://www.biology.washington.edu/fingerprint/elementa.html>. Diakses tanggal 23 Januari 2004
8. Anonim. Practical Applications of DNA Fingerprinting 2004. <http://www.biology.washington.edu/fingerprint/elementa.html>. Diakses tanggal 29 Pebruari 2004
9. Junge A, Steevens M, Madea B. Successful DNA Typing of a Urine Sample in a Doping Control Case Using Human Mitochondrial DNA Analysis. J forensic Sci. Vol. 47:5, 2002 : 1-3.

10. Yasuda T, Lida R, Takeshita H, Ueki M. A Simple Method of DNA Extraction and STR Typing from Urine Sample using a commercially available DNA Extraction Kit. *J Forensic Sci.* Vol.48:1,2003 : 108-10..
11. Dennis Lo.Y.M. Molecular Testing of Urine: Catching DNA on the Way Out. *Clinical Chemistry.* Vol .46, 2000:1039-40.
12. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry* 24<sup>th</sup> Ed. USA: Prentice-Hall International,Inc., 1996: 386 – 416
13. Botezatu I, Serdyuk O, Potapova G, Shelepov V. Genetic Analysis of DNA Excreted in Urine: A New Approach for detecting Specific Genomic DNA Sequences from Cell Dying in an Organism. *Clinical Chemistry.* Vol.46, 2000: 1078-84.
14. Linfert DR, Wu AHB, Tsongalis GJ. The effect of Pathologic substances and adulterants on the DNA typing of Urine. *J Forensic Sci.* Vol. 41:4, 1996.:1041-5.
15. Benecke M, Coenelia S, Staak M. Development of a fast new STR triplex system for identification of urine samples. *J Forensic Sci.* Vol. 48:2, 1996.:179 – 85.
16. Anderson, S., Bankier, A.T., Barrel, B.G., Bruijin, M.H.L.de., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon , I.J., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schier, P.H., Smith, A.J.H., Staden. Sequence and organization of the human mitochondrial genom. *Nature.* 290, 1981 : 457-65.
17. Cann, R.L., Stoneking, M., and Wilson, A.C. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature.* 325, 1987 : 31-6.
18. Sudoyo H. Polimorfisme DNA mitokondria dan kedokteran forensik. Dalam : *Mitochondrial medicine.* Edisi 2. Jakarta : Lembaga Eijkman, 2003 : 53 -69.



19. Yokota M, Tatsumi N, Tsuda I, Takubo T, Hiyoshi M. DNA extraction from human urinary sediment. *J.Clin.Lab.Anal.* Vol. 12, 1998: 88-91.
20. Smuts A.L, Pogue PD. DNA from urine as a Potential Source of Identification. *J Forensic Sci.* Vol. 24:3, 2002.: 5-9
21. Anonim. Forensic Odontology. 2004.  
<http://faculty.ncwc.edu/toconnor/425/425lect16.htm> Diakses tanggal 2 Maret 2004.
22. Anonim. Forensic Anthropology. 2004.  
<http://faculty.ncwc.edu/toconnor/425/425lect16.htm> Diakses tanggal 2 Maret 2004.
23. DeWitte S. Module: Forensic Anthropology. 1996.  
<http://www.sonoma.edu/Anthropology/awcourses/Forensic.html>. diakses tanggal 10 maret 2004.
24. Anonim. Fingerprints and Trace Evidence. 2004.  
<http://faculty.ncwc.edu/toconnor/425/425lect16.htm> Diakses tanggal 2 Maret 2004.
25. Anonim. DNA Typing and Identification. 2004.  
<http://faculty.ncwc.edu/toconnor/425/425lect16.htm> Diakses tanggal 2 Maret 2004.
26. Reno J, Fisher R.C, Robinson L, Brennan N, Travis J. Postconviction DNA Testing: Recommendation for Handling Requests. 1999.  
<http://www.ojp.usdoj.gov/nij>. Di akses tanggal 23 nopember 2003

27. Curran T. Forensic DNA Analysis: Technology and Application. 1997.  
<http://www.parl.gc.ca/information/library/PRBpubs/bp443-e.htm>. Di akses tanggal 2 Oktober 2003.
28. Clayton, D.A. Nuclear gadgets in mitochondrial DNA replication and transcription. *Trends Biochem. Sci.*, 16, 1991 : 107.
29. Kogelnik AM, Lott MT, Brown MD, Navathe SB, Wallace DC. Mitomap : a human mitochondrial genome database 1998 update. *Nucleid Acid Research*. 26, 1, 1998 : 112 – 5.
30. Noer, A.S., Martasih, F., Mulyani, S., Muktiningsih, Wirahadikusumah, M. Analisis variasi nukleotida D-loop mtDNA manusia dari beberapa daerah di Indonesia, Proc. 1<sup>st</sup> seminar on Chemistry Universitas Kebangsaan Malaysia, ITB, Bandung : ITB Press. 1994 : 201 – 14.
31. Orego C, King MC. Determination of familial relationship. In : PCR protocols, a guide to methodes and application. San Diego : Academic Press Inc. 1990
32. Wallace, D.C., Garrison, K., and Knowler, W. Dramatic founder effect in Amerindian mitochondrial DNA. *Am. J. Phys. Anthr.*, 68, 1995 : 149-55.
33. Koss LG. Identification, collection, and laboratory Processing of Cytologic Samples. In *Diagnostic Cytology of the Urinary Tract*. Philadelphia :Lippincott – Raven, 1995 :3-15.
34. Henry JB, Lauzon RB, Schumann GB. In: Henry JB ( eds ). *Urine and Other Body Fluids in Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* 13<sup>th</sup> Ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1996: 411-57.

35. Smuts AL, Pogue PD. DNA from urine as potential source of identification.  
2003. [www.promege.com/geneticidproc/ussymp10proc/abstracts/38Smuts.pdf](http://www.promege.com/geneticidproc/ussymp10proc/abstracts/38Smuts.pdf).  
Diakses tanggal 5 Agustus 2003.