

Kualitas dan Kuantitas DNA pada Bercak Darah Pascapaparan Tanah Dan Ultraviolet-C

DNA Quality and Quantity on Blood Spot Post Soil and Ultraviolet-C Exposure

Muhammad Afiful Jauhani^{1,2}, Sheilla Rachmania¹, Ahmad Yudianto^{3,4,5}

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Jember

² Lab Kedokteran Forensik dan Medikolegal, RSD dr. Soebandi Jember

³ Departemen Kedokteran Forensik dan Medikolegal, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

⁴ Program Studi Forensik, Pascasarjana Universitas Airlangga

⁵ Human Genetic Laboratory, Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga

e-mail korespondensi: afifuljauhani.fk@unej.ac.id

Abstrak

Bercak darah dapat ditemukan di tempat kejadian perkara (TKP) pada banyak kasus tindak kekerasan. Asam deoksiribonukleat (DNA) pada darah dapat digunakan sebagai data primer untuk proses identifikasi akan tetapi bercak darah di TKP berisiko rusak akibat pajanan tanah dan ultraviolet. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mempelajari efek kombinasi dari pajanan sinar ultraviolet-C dan tanah terhadap kualitas dan kuantitas DNA pada bercak darah. Sebanyak 20 gelas berisi 200 gram tanah ditetesi 900 µL darah dan diberikan pajanan sinar ultraviolet-C dalam tiga kelompok berdasarkan durasi pajanan yakni satu hari, tiga hari, dan lima hari. Satu kelompok digunakan sebagai kontrol. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan DNAzol dilanjutkan dengan pengukuran spektrofotometri untuk mengetahui kualitas dan kuantitas DNA. Peningkatan konsentrasi DNA dapat diamati yaitu 681,1 pada hari pertama menjadi 1274,7 pada hari ketiga dan mulai menurun menjadi 1090,6 pada hari kelima, sedangkan kemurnian DNA terus menurun secara konstan seiring dengan meningkatnya durasi pajanan. Penelitian ini menunjukkan bahwa pajanan sinar ultraviolet-C dan tanah menyebabkan degradasi molekul DNA menjadi fragmen-fragmen molekul yang lebih kecil sehingga terjadi peningkatan kuantitas DNA yang disertai penurunan kualitas DNA. Penurunan kualitas DNA dapat mempersulit proses identifikasi sehingga isolasi DNA sampel pada tanah terbuka yang terpajan matahari harus dilakukan sesegera mungkin.

Kata Kunci: DNA, darah, tanah, ultraviolet C, patologi forensik

Abstract

In most cases of violence, bloodstains remain at the crime scene. Deoxyribonucleic acid (DNA) on blood stains can be used as primary data for identification. Unfortunately, bloodstains at crime scenes are at risk of soil and ultraviolet exposure. The effects of these exposures to bloodstain's DNA are unknown. This research aimed to study the combined effect of Ultraviolet C and soil on the quality and quantity of DNA in bloodstains. In this study, 20 glasses containing 200grams soil were poured 900µL blood and irradiated with Ultraviolet C, divided into three groups based on the duration of exposure at one day, three days and five days, and a group as a control. DNAzol extracted each sample and subsequently measured with spectrophotometry to determine DNA quality and quantity. The exposure time of DNA bloodstain from days 1, 3, and 5 under spectrophotometry measurement showed a gradual increase and then dropped down in the concentration parameter on day five, but the purity decreased continually. Soil and ultraviolet C exposure presents a double impact after the third day of exposure, which increased DNA concentration from 681.1 µg/µL to 1274.7 µg/µL and reduced DNA purity. This result suggests a destructive potential of the DNA molecule by destruction into small-molecule fragments, thus reducing purity/intactness. There is a meaningful relationship between combined Ultraviolet C and Soil effects on DNA quality and quantity.

Keywords: DNA quality, DNA quantity, bloodstain, soil, ultraviolet C

Pendahuluan

Pemeriksaan bercak darah merupakan salah satu pemeriksaan yang paling sering dilakukan pada laboratorium forensik karena darah mudah sekali tercecer pada hampir semua bentuk tindakan kekerasan. Penyelidikan terhadap bercak darah sangat berguna untuk mengungkap suatu tindak pidana. Darah merupakan bukti biologis yang penting karena merupakan sampel biologis dengan sifat-sifat potensial lebih spesifik untuk golongan manusia tertentu (James dan Eckert, 1999). Bercak darah masih mengandung komponen darah di antaranya sel darah. Pada sel darah terdapat *Deoxyribonucleic acid* (DNA) yang merupakan alat investigasi potensial.

Hasil pemeriksaan DNA yang didapatkan dari Tempat Kejadian Perkara (TKP) dapat digunakan sebagai alat bukti petunjuk (NIJ, 2013), akan tetapi sampel biologi forensik yang ditemukan di lapangan seringkali terpengaruh oleh sejumlah faktor lingkungan. Sampel biologis di TKP hampir selalu terpapar sinar matahari, utamanya sinar ultraviolet C (UVC) dan tanah, dan paparan kedua faktor tersebut diketahui mempengaruhi proses degradasi DNA pada sampel biologi forensik (Hall, Sims dan Ballantyne, 2014). Dalam proses investigasi, penentuan waktu kejadian di TKP seringkali merupakan misteri yang tidak terpecahkan. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mempelajari efek gabungan sinar UVC dan tanah pada kualitas dan kuantitas DNA dalam bercak darah. Belum diketahui apakah sinar UVC dan tanah mempengaruhi laju degradasi DNA secara konstan. Apabila laju degradasi DNA akibat paparan sinar UVC dan tanah merupakan laju konstan maka efek tersebut dapat digunakan sebagai petunjuk awal terkait rentang umur TKP untuk memberikan informasi mengenai perkiraan waktu kejadian. DNA yang terdegradasi oleh ultraviolet C dari sinar matahari dan tanah di TKP dapat memberikan efek prediktif untuk memperkirakan waktu kejadian di TKP.

Metode

Studi eksperimental dilakukan di Laboratorium Biofisika-Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga lalu dilanjutkan di Laboratorium *Human Genetics-Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga. Penelitian ini menggunakan total 20 sampel darah (5 sampel sebagai kontrol dan 15 sampel mendapat perlakuan).

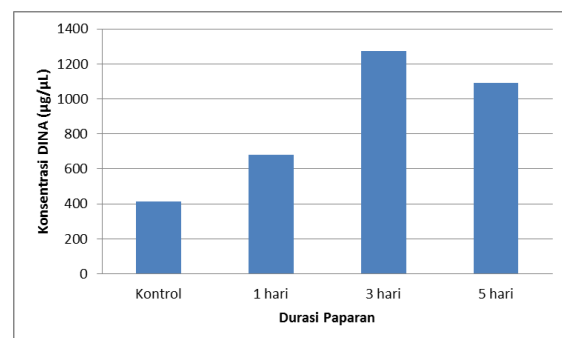
Sampel selanjutnya dibagi ke dalam 4 kelompok yakni kelompok kontrol, kelompok 1 dengan lama

paparan 1 hari, kelompok 2 dengan lama paparan 3 hari, dan kelompok 3 dengan lama paparan 5 hari. Paparan berupa sampel darah sebanyak 900 μL diteteskan ke kontainer berisi 200 gram tanah kemudian diberikan penyinaran ultraviolet C menggunakan Sankyo Denki G15T8 15W pada panjang gelombang 253,7 nm yang diletakkan pada jarak 60 cm di atas sampel.

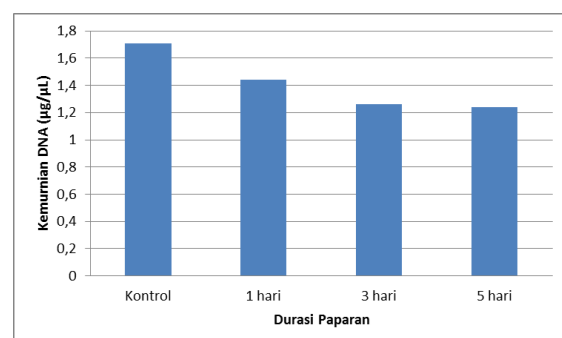
DNA dari masing-masing sampel diekstraksi menggunakan metode organik DNAzol, kemudian kemurnian DNA diukur menggunakan spektrofotometer UV-1601 Shimadzu.

Hasil

Gambar 1 menunjukkan konsentrasi DNA rata-rata meningkat pada hari pertama hingga hari ketiga lalu kemudian menurun pada hari kelima. Kemurnian DNA terus menurun pasca paparan hari pertama, hari ketiga hingga hari kelima.



(A)



(B)

Gambar 1. (A) Konsentrasi dan kemurnian DNA setelah paparan ultraviolet C dan tanah pada kelompok kontrol dan ketiga kelompok perlakuan. Kenaikan konsentrasi DNA dapat diamati pada paparan hari ke-3 dan menurun pada hari ke-5. (B) menunjukkan trend sebaliknya dimana kemurnian DNA makin menurun seiring dengan makin lama durasi paparan.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan beberapa tes yang bertujuan menerima atau menolak fenomena hipotetis yang dikonseptualisasikan untuk menjawab masalah. Untuk menentukan uji parametrik atau non parametrik yang diperlukan maka dilakukan uji homogenitas seperti yang ditampilkan pada Tabel 1 (Sastroasmoro dan Ismael, 2016).

Tabel 1 menunjukkan data kemurnian DNA homogen karena nilai signifikansi yang dihitung lebih besar dari 0,05 (0,620-0,005). Sebaliknya, nilai signifikansi konsentrasi DNA pada Tabel 2 kurang dari 0,05 sehingga data konsentrasi tidak homogen (0,003 < 0,005). Dengan demikian, untuk data homogen (waktu pemaparan dan kemurnian DNA) dilakukan uji ANOVA sedangkan pada data yang tidak homogen (waktu pemaparan terhadap konsentrasi DNA) dilakukan tes Kruskal Wallis.

Tabel 1. Homogenitas Variansi kemurnian DNA

Kemurnian DNA			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.597	3	16	.626

Tabel 2. Homogenitas Variansi konsentrasi DNA

Konsentrasi DNA			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.892	3	16	.003

Analisis statistik pada Tabel 3 menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna dari durasi paparan UVC dan tanah terhadap kualitas/kemurnian DNA.

Tabel 3. Signifikansi Kemurnian DNA secara statistik menggunakan ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.706	3	.235	49.231	.000
Within Groups	.077	16	.005		
Total	.783	19			

Uji statistik Kruskal Wallis pada Tabel 4 menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,005$). Hal ini mengindikasikan adanya perbedaan bermakna dari durasi paparan UVC dan tanah terhadap kuantitas/konsentrasi DNA.

Tabel 4. Signifikansi Konsentrasi DNA secara statistik menggunakan Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Lama Paparan	N	Mean Rank
Konsentrasi	Kontrol	5	3.00

DNA	1 Hari Paparan	5	8.00
	3 Hari Paparan	5	16.20
	5 Hari Paparan	5	14.80
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

Konsentrasi DNA	
Chi-Square	16.211
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Lama Paparan

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian inisial untuk mengetahui apakah ada perbedaan terhadap kualitas dan kuantitas DNA yang terpapar sinar UVC dan tanah. Dampak paparan terhadap DNA yang diukur dalam spektrofotometer seperti yang disajikan pada Tabel 1, mengalami penurunan kemurnian bertahap meskipun konsentrasi rata-rata meningkat dari 412,9 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ lalu 681.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ menjadi 1274.7 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan turun 1090,6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Ini menunjukkan potensi kerusakan molekul DNA dengan mendestruksi DNA menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil (Mikutis *et al.*, 2019).

Fenomena kerusakan sama dengan radiasi sinar matahari pada sampel biologis, mekanisme homeostatik seperti foto-reaktivasi, *mismatch repair*, *recombination repair*, dan dengan respon SOS yang membantu organisme menjaga DNA mereka menjadi terganggu (Fishel dan Lee, 2016). Hal tersebut menjelaskan terjadinya peningkatan konsentrasi DNA tetapi kemurniannya menurun merupakan kerusakan dan penghancuran molekul DNA menjadi rantai yang lebih pendek (Rastogi *et al.*, 2010; Montpetit, Fitch, dan O'Donnell, 2005).

Telah ditetapkan bahwa di antara komponen penghancur DNA penting dari tanah adalah molekul asam humat. Sampel yang ditempatkan di tanah secara otomatis dipengaruhi oleh asam humat yang merupakan komponen pembentuk utama dari dekomposisi bahan organik. Pada tanah juga terdapat mikroorganisme yang memproduksi enzim yang juga akan mempercepat degradasi DNA (Orgiazzi *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 2015).

Kesimpulan

Terdapat perbedaan dari kombinasi paparan UVC dan tanah terhadap kualitas dan kuantitas DNA pada bercak darah.

Daftar Pustaka

- Fishel R, Lee JB. Mismatch repair. DNA Replication, Recomb Repair Mol Mech Pathol. 2016;290(44):305–39.
- Hall A, Sims LM, Ballantyne J. Assessment of DNA damage induced by terrestrial UV irradiation of dried bloodstains: Forensic implications. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2014;8(1):24–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.06.010>
- James SH, Eckert WG. Interpretation of Bloodstain Evidence Second Edition Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. 1999.
- Mikutis G, *et al.* Length-dependent DNA degradation kinetic model: Decay compensation in DNA tracer concentration measurements. AIChE J. 2019;65(1):40–8.
- Montpetit, S., Fitch, I., and O'Donnell, P., "A Simple Automated Instrument for DNA Extraction in Forensic Casework," Journal of Forensic Sciences, Vol. 50, No. 3, 2005, pp. 1-9
- National Institute of Justice. Understanding DNA Evidence: A Guide for Victim Service Providers. Office of Justice Programs National Institute of Justice: Washington. 2013.
- Orgiazzi A, Dunbar MB, Panagos P, de Groot GA, Lemanceau P. Soil biodiversity and DNA barcodes: Opportunities and challenges. Soil Biol Biochem. 2015;80:244–50.
- Rastogi RP, *et al.* Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. J Nucleic Acids. 2010;2010.
- Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Jakarta: Sagung Seto; 2016. 345 p.
- Williams TMS, *et al.* Evaluation of DNA Degradation Using Flow Cytometry, The American Journal of Forensic Medicine and Pathology: June 2015 - Volume 36 - Issue 2 - p 104-110.