

Marker Spesifik Combine DNA Index System (CODIS) 13 Dalam Identifikasi Forensik Pada Suku Jawa dan Madura di Indonesia

Wening Prastowo¹⁾, Fitria Dewi Listiana²⁾

1)Laboratorium Ilmu Kedokteran Forensik FKUB Malang

2)Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

Forensic identification can be performed DNA examination. FBI had recommended, forensic DNA examination to used short tandem repeat CODIS 13. Result of determine Short tandem repeat CODIS 13, showed specific pattern. Java tribes are shown, the Heterozygosity Index ranged from 0,60069 (VWA) to 0,93752 (D18S51), the Power of Exclusion ranged from 0,30885 (VWA), to 0,83068 (D18S51), the Power of Discrimination ranged from 0,52853 (VWA), to 0,99127 (D18S51). Madura tribes shown, the Heterozygosity Index ranged from 0,63021 (VWA) to 0,94445 (FGA), the Power of Exclusion ranged from 0,33418 (VWA), to 0,84779 (FGA), the Power of Discrimination ranged from 0,60501 (TPOX), to 0,99305 (FGA).

Keyword: *Forensic identification, CODIS 13, Java tribes, Madura tribes.*

PENDAHULUAN

Identifikasi forensic dapat dilakukan dengan membandingkan data ante mortem dan post mortem. Korban dinyatakan teridentifikasi bila salah satu pemeriksaan sidik jari, gigi atau DNA cocok, atau bila data medis dan property cocok. Pemeriksaan DNA merupakan alternatif yang bisa dilakukan pada saat kondisi korban mengalami kerusakan yang berat. Sampai dengan sekarang, pemeriksaan DNA forensic di Indonesia masih menggunakan lokus CODIS 13 standart FBI. Indonesia adalah Negara kepulauan yang terdiri dari banyak suku. Masing-masing suku mempunyai budaya, bahasa yang berbeda. Dari sisi genetic, pola pemeriksaan lokus CODIS 13 mempunyai ciri yang spesifik pada tiap suku yang ada. Sampel diambil dari suku jawa dan Madura, dengan jumlah masing masing suku 12 orang. Sampel diambil dari sukub asli Madura dan jawa, dengan menandatangi informed consent.

DNA diisolasi dari darah menggunakan kit Nucleospin Blood Quick Pure. Darah 200 µl

dimasukkan dalam tube 1,5 ml dan ditambah 25 µl Proteinase K kemudian dihomogenkan. Larutan tersebut ditambah 200 µl BQ1, divorteks (BR 2000 Vortexer BIO RAD) selama 20 detik dan diinkubasi dalam incubator (Memmert) pada suhu 70°C selama 30 menit (divorteks setiap 10 menit). Larutan ditambah 200 µl ethanol absolute (dalam kondisi tidak dingin) dan divorteks selama 10 detik. Larutan darah dipindahkan ke tube membrane silica yang dilengkapi tabung koleksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 g selama 1 menit pada suhu 25°C (SIGMA 3-18K Sartorius). Supernatan dibuang dan tabung koleksi diganti. Membrane silica ditambah 350 µl buffer BQ2 kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 11.000 g selama 3 menit suhu pada 25°C. Supernatan dibuang dan tabung koleksi diganti. Sentrifugasi diulangi dengan kecepatan, waktu dan suhu yang sama. Tabung koleksi diganti dengan tube 1,5 ml yang baru. Membrane silica ditambah 25 µl buffer BE hangat, diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 11.000 g selama 3 menit pada suhu 25°C. Langkah yang terakhir diulangi kembali. DNA total sebanyak 50 µl disimpan pada freezer suhu -20°C (Toshiba).

Amplifikasi Komposisi PCR dengan volume total 10 µl per-tube terdiri atas 6 µl ddH2O, 10 µl PCR master mix kit (10x buffer Taq polymerase, dNTP, MgCl2, primer, Taq DNA Polymerase, ddH2O), primer forward 1 µl, primer reverse 1 dan 2 µl DNA genomik darah. Program PCR (Takara) yang digunakan untuk mengamplifikasi ditampilkan dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Program PCR

Tahapan PCR	Suhu	Waktu	Siklus
Predenaturasi	94°C	1 menit	1 kali
Denaturasi	94°C	1 menit	
Annealing	60°C	1 menit	35 kali
Ekstensi	72°C	1 menit	
Ekstensi akhir	72°C	10 menit	1 kali

Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel poliakrilamid 8%, dengan memasukkan bahan berikut secara berurutan ke dalam botol polipropilen 50 ml yaitu 2,4 ml TBE 5x pH 8; 3,2 ml akrilamid 30%; 6,4 ml akuades steril, 200 μ l APS 10% dan 10 μ l TEMED. Setelah penambahan TEMED, larutan dicampurkan dan segera dimasukkan ke dalam rakitan kaca yang dipasang pada *casting frame* secara perlahan dan merata. Sisiran (*comb*) dipasang setelah larutan sudah memenuhi rangkaian kaca, sisa larutan yang tumpah dapat dibersihkan menggunakan tisu. Hasil running poliakrilamid elektroforesis vertikal divisualisasi dengan merendam gel dalam 50 ml TBE 1x pH 8 yang telah dicampurkan dengan 1 μ l ethidium bromide (1 mg/ml). Gel direndam dan digoyangkan dengan kecepatan 50 rpm selama 10 menit. Selanjutnya TBE 1x pH 8 dibuang dan diganti dengan 50 ml akuades steril. Gel direndam dan digoyangkan dengan kecepatan dan waktu yang sama. Gel dapat divisualisasi dan didokumentasi menggunakan gel doc.

Analisis statistic dari allele tiap tiap lokus CODIS 13 dianalisa dari sisi heterozygosity index, power of exclusion, power of discrimination dan paternity index. Heterozygosity ondex dihitung dengan meng-gunakan rumus (Butler, J, 2005):

$$\text{Homozygosity (h)} = \sum_{i=1}^n P_i^2$$

$$\text{Heterozygosity (H)} = 1 - \text{Homozygosity} = 1 - \sum_i p_i^2$$

$$PD = 1 - 2 \left(\sum_1^n P_I^2 \right)^{-} - \sum_1^n P_I^4$$

$$\text{Power of Exclusion (PE)} = H^2(1 - (1-H)H^2)$$

$$\text{Paternity Index (PI)} = \frac{H+h}{2h} = \frac{(1-h)+h}{2h} = \frac{1}{2h} = \frac{1}{2 \sum_{i=1}^n p_i^2}$$

H : Heterozygosity index

Pi : allele frequency

H : homozigosity index

PD : Power of Discrimination

PE : Power of Exclusion

PI : Paternity Index

HASIL DAN DISKUSI

Tabel 2. Distribusi Alella CODIS 13 pada Suku Jawa

Allele	TPOX	CSF1PO	TH01	vWA	D3S1358	FGA	D13S317	D16S539	D18S51	D5S818	D7S820	D8S1179	D21S11
24													
25						0,1667							0,0833
26						0,1667							0,0833
27						0,0833							0,0833
28													0,3333
29													0,2500
30						0,0833							0,1667
31													
32													
H	0,76737	0,725699	0,91321	0,60069	0,87154	0,92015	0,79688	0,86980	0,93752	0,87153	0,85070	0,90455	0,88718
PE	0,50819	0,45056	0,77359	0,30885	0,68545	0,78943	0,55311	0,68203	0,83068	0,68544	0,64550	0,75426	0,71719
PD	0,8493	0,78672	0,98172	0,52853	0,96091	0,98324	0,89612	0,96001	0,99127	0,96279	0,95542	0,97897	0,97015
PI	2,1493	1,82282	5,76077	1,25219	3,89211	6,26158	2,46159	3,84022	8,00282	3,89196	3,34894	5,23725	4,43164

Heterozygosity index (H), Power of Exclusion (PE), Power of Discrimination (PD), Paternity Index (PI)

Tabel 3. Distribusi Alella CODIS 13 pada suku Madura

Allele	TPOX	CSF1PO	TH01	vWA	D3S1358	FGA	D13S317	D16S539	D18S51	D5S818	D7S820	D8S1179	D21S11
31													0,1667
32													0,0833
H	0,7326	0,78126	0,84897	0,63021	0,82119	0,94445	0,91945	0,77431	0,94098	0,90625	0,84029	0,82982	0,85244
PE	0,6275	0,52887	0,64228	0,33418	0,59303	0,84779	0,78781	0,51842	0,83917	0,75807	0,626465	0,60790	0,64874
PD	0,6050	0,86012	0,94497	0,60994	0,91531	0,99305	0,98282	0,87775	0,99109	0,96491	0,93572	0,92756	0,94849
PI	1,8701	2,28577	3,31051	1,35211	2,79619	9,00074	6,20694	2,2154	8,47170	5,33356	3,13069	2,93801	3,38845

Heterozygosity index (H), Power of Exclusion (PE), Power of Discrimination (PD), Paternity Index (PI)

Frekuensi Allela yang sering muncul pada suku jawa dari tiap lokus D3S1358, 15; VWA, 17; FGA, 20; TH01, 8; TPOX, 9; CSF1PO, 10; D5S818, 11; D13S317, 12; D7S820, 11; D8S1179, 14; D21S11, 13; D18S51, 16; dan lokus D16S539, 8. Sedangkan frekeuensi allele yang sering muncul pada suku Madura adalah D3S1358, 17; VWA, 17; FGA, 23; TH01, 7; TPOX, 10; CSF1PO, 10; D5S818, 11 dan 12; D13S317, 11; D7S820, 11; D8S1179, 16; D21S11, 11; D18S51, 15; dan lokus D16S539, 8.

Pada suku jawa tingkat heterogenitas CODIS 13 bervariasi mulai 0,60069 (VWA) sampai dan 0,93752 (D18S51). Sedangkan tingkat *power of exclusion* bervariasi antara 0,30885 (VWA) sampai 0,83068 (D18S51). Untuk tingkat *power of discrimination* antara 0,52853 (VWA) sampai 0,99127 (D18S51). Tingkat heterogonitas CODIS 13 pada suku jawa mulai yang terendah lokus VWA, CSF1PO, TPOX, D13S317, D7S820, D16S539, D3S1358, D5S818, D21S11, D8S1179, TH01, FGA, D21S11. Tingkat *power of exclusion* mulai dari VWA, CSF1PO, TPOX, D13S317, D7S820, D16S539, D5S818, D3S1358, D8S1179, D21S11, TH01, FGA, D18S51. Tingkat *power of discrimination* pada suku jawa mulai VWA, CSF1PO, TPOX, D13S317, D7S820, D16S539, D3S1358, D5S818, D21S11, D8S1179, TH01, FGA, D18S51.

Pada suku Madura untuk tingkat heterozygosity index bervariasi mulai 0,63021 (VWA) sampai 0,94445 (FGA). Untuk tingkat power of exclusion bervariasi mulai 0,33418 (VWA) sampai 0,84779 (FGA). Tingkat *power of discrimination* antara 0,60501 (TPOX) sampai 0,99305 (FGA). Tingkat heterozygosity index CODIS 13 pada suku madura mulai yang terendah lokus VWA, TPOX, D16S539, CSF1PO, D3S1358, D8S1179, D7S820, TH01, D21S11, D5S818, D13S317, D18S51, FGA. Tingkat *power of exclusion* mulai dari VWA, D16S539, CSF1PO, D3S1358, TPOX, D8S1179, D7S820, TH01, D21S11, D5S818,

D13S317, D18S51, FGA. Tingkat *power of discrimination* pada suku jawa mulai TPOX, VWA, CSF1PO, D16S539, D3S1358, D8S1179, D7S820, TH01, D21S11, D5S818, D13S317, D18S51, FGA.

DAFTAR PUSTAKA

- Alphonsus Q, Bambang G, Sahelangi P, Rosita R, Suseno U, Lebang Y, 2004, Standart Nasional Rekam Medik Kedokteran Gigi, Dirjen Pelayanan Medik Depkes RI, 1 – 15.
- Alonso A, Martin P, Albaran C, Garcia P, Simon FD, Iturralde MJ, Rodriguez AF, Atienza I, Capilla J, Garcia JH, Martinez P, Vellejo G, Garcia O, Garcia E, Real P, Alvarez D, Leon A, Sancho M, 2005, Challenges of DNA Profiling in mass disaster investigations, Croatian medical journal, 540 – 48.
- Barbaro A, Cormaci P, 2008, Study about the effect of high temperautures on STRs typing, Forensic science international : genetics supplement series I, 92 – 94.
- Budowle B, Bibier FR, Eisenberg AJ, 2005, Forensic aspect of mass disasters: strategic considerations for DNA – based human identification. Legal Medicine 7: 230 – 243.
- Budowle B, Eisenberg AJ, Vandaal A, 2009, Validity of copy number typing and applications to forensic science. Croatia Medical Journal 50 : 207 -215.
- Budowle B, Gee J, Chakraborty R, Arthur J, Green R, Mulero J, Lagace R, Hennesi I, 2011, Population genetic analyses of NGM STR loci, Int J legal Medicine, 125: 101-109.
- Butler JM, 2005, Forensic DNA Typing, Elsevier Academic Press, 1 – 150.
- Buttler, JM, 2006, Genetics and Genomics of core STR loci used in Human identity testing. Journal forensic science, 1 – 48.
- Chrystelle R, Christelie B, Paul MJ, 2008, New set markers for individual geographic origin.

- Forensic science International: genetics supplement series (I): 482 – 483.
- Coble MD, Vallone PM, Just RS, Diegoli TM, Smith BC, Parsons TJ, 2006, Effective strategies for forensic analysis in the mitochondrial DNA coding region. *Int J Legal Med* 120: 27 – 32.
- Goodwin W, Linacre A, Hadi S, 2007, An Introduction to Forensic Genetic, John Wiley & Sons, Ltd, 1 – 112.
- Fatchiyah, Estri Laras Arumingtyas, Sri Widayarti, Sri Rahayu, 2009, Dasar – Dasar Analisa Biologi Molekuler, LSIH Press Universitas Brawijaya Malang, 15 – 23, 27 – 29 .
- Herrera LG, Navarrete LG, Canto CR, Herrera JC, Ponce DV, Caloca GM, Najar ED, Vega BQ, Flores MC, 2010, Forensic parameters and genetic variation of 15 autosomal STR loci in Mexican Mestizo population from the state of yucatan and Nayarit. *Forensic Science Journal* 3: 57 – 63.
- Jakovski Z, Nikolova K, Janeska B, Cakar Z, Stankov A, Poposka V, Palpovski G, Duma A, 2010, Forensic DNA analysis in the identification of human remains in mass graves. *Journal of clinical pathology and forensic medicine* 1(1): 1 – 4.
- Kirby TL, 1992, DNA Fingerprinting, M Stockton Press, 1 – 33.
- Lee CH, 2001, Advances in Fingerprint Technology, second edition, CRC Press, 1 – 3.
- Malaver PC, Yunis JJ, 2003, Different Dental Tissues as Source of DNA for Human Identification in Forensic Cases. *Croation medical Journal* 44 (3): 306- 09.
- Malingkas SR, 2010, Introduction and Overview of Forensic Odontology. Internationale DVI and Mortuary Management Course, JCLEC, Semarang Indonesia.
- Morgan Oliver, 2006, Management of Dead Bodies after Disaster: a Field Manual for First Responders, Washington DC: PAHO, 13 – 44.
- Mukherjee MB, Tripathy V, Colah B, Solanki PK, Ghost K, Reddy BM, Mohanty D, 2009, Microsatellite diversity among the primitive tribes of India. *Indian Journal of Human Genetics* 15(3): 114 – 119.
- Mulyono A, Bambang G, Sahelangi P, Rosita R, Purnomo S, Suseno U, Lebang Y, 2006, Pedoman Penatalaksaan Identifikasi Korban Mati pada Bencana Masal, Departemen Kesehatan, Jakarta, 1 – 73.
- Prinz M, Carracedo A, Mayr WR, Morling N, Parsons TJ, Sajantila A, Scheitthauer H, Scheneider PM, 2007, DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Recommendation regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Science Internationale Genetics* I: 3-12.
- Putkonen MT, Palo JU, Cano JM, Hedman M, Sajantila A, 2010, Factors affecting the STR amplification success in poorly preserved bone samples. *Investigative Genetics* 1(9): 1 – 7.
- Rapley R , Whitehouse D, 2007, Molecular Forensic, John Wiley & Sons Ltd, 1 – 85.
- Rubio L, Martinez LJ, Martinez E, Martin S, 2009, Study of Short and Long Term Storage of Teeth and its Influence on DNA. *J forensic Sc* 54(6): 1411 – 1413.
- Saparwoko E, 2006, DVI in Indonesia. Disaster Victim Identification Workshop, Indonesian National DVI Committee, Bandung Indonesia.
- Sun G, Mcgarvey ST, Bayoumi R, Mulligan CJ, Barrantes R, Raskin S, Zhong Y, Akey J, Chakraborty R, Deka R, 2003, Global genetic variation at nine short tandem repeat loci and implications on forensic genetic. *European Journal of Human Genetics* 11: 39 – 49.
- Untoro E, Atmaja JS, Pu CE, Wu FC, 2009, Allele frequency of CODIS 13 in Indonesian population. *Legal medicine* 11: S203 – 205.
- Wahyono, A, 2010, Introduction of Mortuary Activity. Internationale DVI and Mortuary Management Course, JCLEC, Semarang Indonesia.