

TESIS

**ANALISIS EFEK LAMA PAPARAN MEDIA TANAH
TERHADAP KUALITAS DNA DARI BERCAK SEMEN
MELALUI METODE *SHORT TANDEM REPEAT COMBINED
DNA INDEX* (STR-CODIS D5S818 DAN D16S539)**



Oleh

HERIBERTUS AGUSTINUS BILO TENA

NIM 091814653001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU FORENSIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2020

TESIS

**ANALISIS EFEK LAMA PAPARAN MEDIA TANAH
TERHADAP KUALITAS DNA DARI BERCAK SEMEN
MELALUI METODE *SHORT TANDEM REPEAT COMBINED
DNA INDEX* (STR-CODIS D5S818 DAN D16S539)**

Oleh

HERIBERTUS AGUSTINUS BILO TENA

NIM 091814653001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU FORENSIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**ANALISIS EFEK LAMA PAPARAN MEDIA TANAH
TERHADAP KUALITAS DNA DARI BERCAK SEMEN
MELALUI METODE *SHORT TANDEM REPEAT COMBINED
DNA INDEX (STR-CODIS D5S818 DAN D16S539)***

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Magister Ilmu Forensik
Pada Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh

HERIBERTUS AGUSTINUS BILO TENA

NIM 091814653001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU FORENSIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 09 DESEMBER 2020

Oleh:

Pembimbing Ketua

Dr. Ahmad Yudianto., dr., Sp.F(K),, SH., M. Kes
NIP.197305302016016101

Pembimbing Kedua

Prof. Dr. Jenny Sunariani., drg., MS., AIFM , PBO
NIP.195302071981032001

Mengetahui

Koordinator Program Studi Magister Ilmu Forensik

Dr. Ahmad Yudianto., dr., Sp.F(K),, SH., M. Kes
NIP.197305302016016101

**HALAMAN PENETAPAN
PANITIA PENGUJI TESIS**

Tesis ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji pada Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga
Pada Tanggal 23 Desember 2020

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Med. HM. Soekry Erfan Kusuma,dr., Sp. F(K)., DFM

Anggota : 1. Dr.Ahmad Yudianto, dr., Sp. F(K)., SH.,M.Kes (Pembimbing Ketua)
2. Prof. Dr. Jenny Sunariani,drg., MS.,AIFM.,PBO (Pembimbing)
3. Dr. Phil. Toetik Koesbardiati, dra.,DFM.
4. Ninuk Hariyani, drg., M.Kes.,MPH. PhD

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : HERIBERTUS AGUSTINUS B TENA
NIM : 091814653001
Program Studi : MAGISTER ILMU FORENSIK
Judul Tesis : ANALISIS EFEK LAMA PAPARAN MEDIA TANAH
TERHADAP KUALITAS DNA DARI BERCAK SEMEN
MELALUI METODE *SHORT TANDEM REPEAT*
COMBINED DNA INDEX (STR-CODIS D5S818 DAN
D16S539)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik. Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 09 Desember 2020



HERIBERTUS AGUSTINUS B TENA
NIM 091814653001

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur hanya milik Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan pembuatan tesis dengan judul **“ANALISIS EFEK LAMA PAPARAN MEDIA TANAH TERHADAP KUALITAS DNA DARI BERCAK SEMEN MELALUI METODE SHORT TANDEM REPEAT COMBINED DNA INDEX (STR-CODIS D5S818 DAN D16S539”**. Tesis ini merupakan kewajiban bagi mahasiswa jenjang Magister Ilmu Forensik sebagai salah satu syarat untuk memapatkan gelar Magister Sains (M.Si) di Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan tesis ini tidak lepas dari segenap bantuan dan dukungan serta bimbingan dari berbagai pihak.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Badri Munir Sukoco, S.E., MBA., Ph.D dan Wakil Direktur I Dr. Rudi Purnomo, S.E., M.Se Wakil Direktur II Prof. Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si dan Wakil Direktur III Dr. Suparto Wijoyo, S.H., M. Hum yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Forensik Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga.
2. Dr. Ahmad Yudianto, dr., Sp. F(K)., SH., M. Kes. selaku Kepala Program Studi Ilmu Magister Forensik dan dosen pembimbing pertama yang telah memberi ijin untuk pembuatan tesis dan telah dengan sabar dan tulus memberikan bimbingan dan arahan baik dalam penulisan naskah tesis, publikasi jurnal, maupun menyelesaikan studi ini.
3. Prof. Dr. Jenny Sunariani., drg., MS., AIFM., PBO selaku dosen pembimbing kedua yang dengan penuh kesabaran, ketulusan dan penuh dedikasi tinggi telah membimbing penulis dalam menyelesaikan tesis, publikasi, pemberian dana Penelitian Tesis Magister dan hal-hal yang berhubungan dengan kelulusan ananda ini.
4. Prof. Dr. Med. HM. Soekry Erfan Kusuma, dr., Sp. F(K)., DFM, Dr. Phil. Toetik Koesbardiati, dra., DFM dan Ninuk Hariyani, drg., M.Kes., MPH. PhD

5. sebagai dosen penguji proposal tesis dan tesis saya ucapkan terima kasih untuk segala bentuk bantuan, kritikan dan masukan atas tesis ini.
6. Laboratorium Klinik Andorologi RS. Dr. Soetomo, Laboratorium Laboratorium Mekanika Tanah dan Batuan Departemen Teknik Sipil FTSPK-Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya dan Laboratorium Human Genetik *Institute of Tropical Diseases (ITD)* Universitas Airlangga atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan saat melakukan penelitian di laboratorium pada saat penelitian.
7. Kepada kedua orangtua saya, Drs. Arnoldus Tena dan Karolina Kadu yang selalu mendoakan saya setiap saat, kakak saya Yeni Tena serta adik saya Elisabet N.Tena dan Echy Tena yang selalu mendoakan, memberikan semangat dan senyum serta selalu mensupport dan membesarluarkan penulis sampai saat ini.
8. Bapak Kombes Pol Joehanies Ryanto, SIK bersama keluarga yang telah memberikan serta selalu memberikan semangat dan mensupport penulis sampai saat ini sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
9. Mas Fery Setiawan drg., M.Si., dr. Edwin Tambunan dan seluruh teman-teman Magister Ilmu Forensik angkatan 18-1 dan angkatan 19-1.
10. Seluruh keluarga dosen dan staf di Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga (SPS UNAIR) khususnya Program Studi Magister Ilmu Forensik
11. Semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu di sini atas segala bantuan dan doanya dalam pembuatan tesis ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa menganugerahkan pahala yang sebesarnya dan berlipat ganda atas segala bantuan yang telah diberikan dalam menyelesaikan pendidikan program magister ini. Akhir kata, semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Surabaya, 23 Desember 2020

Penulis

RINGKASAN

Analisis Efek Lama Paparan Media Tanah Terhadap Kualitas DNA Dari Bercak Semen Melalui Metode *Short Tandem Repeat Combined DNA Index (STR-CODIS D5S818 Dan D16S539)*

Heribertus Agustinus Bilo Tena

Pemeriksaan suatu kejahatan atau tindak pidana dapat ditemukan dari berbagai usaha dan metode yang dilakukan oleh aparat penegak hukum dalam memperoleh bukti-bukti yang dibutuhkan yang bertujuan mengungkap kebenaran dalam suatu perkara tindak pidana baik pada tahap pemeriksaan pendahuluan seperti penyidikan dan penuntutan maupun pada tahap persidangan perkara tindak pidana (Lubis, 2017).

Masalah tindak pidana atau kejahatan dalam kehidupan masyarakat mempunyai gejala yang sangat kompleks dan rawan serta senantiasa menarik perhatian untuk dibicarakan. Masalah tindak pidana atau kejahatan dapat dipahami karena persoalan kejahatan merupakan suatu perbuatan tingkah laku yang bertentangan dengan undang-undang dan merugikan dalam kehidupan masyarakat. Tindak pidana atau kejahatan yang berkembang di masyarakat terdiri dari berbagai ragam bentuk dan jenisnya (Ovilastisa, 2017). Tindak pidana atau kejahatan di Indonesia secara umum diatur dalam peraturan hukum yaitu Kitab Undang-Undang Hukum Pidana (KUHP), salah satu bentuk dari tindak pidana atau kejahatan adalah perkosaan. Kasus tindak pidana perkosaan merupakan suatu peristiwa kejahatan terhadap keseksualan yang sulit dibuktikan secara langsung walaupun pada kasus tersebut telah dilakukan pemeriksaan dan pengumpulan barang bukti hasil tindak pidana yang lengkap oleh penyidik di tempat kejadian perkara (Kalangit *et al*, 2013).

Pemecahan suatu kasus tindak pidana akan menyertakan proses penyidikan didalamnya, observasi terhadap bukti fisik dan interpretasi dari hasil analisis barang bukti merupakan sarana utama dalam penyidikan tersebut (Putri & Yudianto, 2016). Proses identifikasi dengan menggunakan DNA bervariasi dalam hal metode yang digunakan, salah satunya melalui analisa *Short Tandem Repeat* (STR) (Aflanie *et al*, 2017). Kunci keberhasilan dari teknik ini yaitu dilakukan dengan cara mengamplifikasi urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi DNA non target serta pada penggunaan suhu yang sesuai pada berbagai tahap yang dilakukan (Irianto, 2017). Jumlah DNA yang ditemukan di TKP kadang sangat minimal sehingga tidak dapat dilakukan proses identifikasi, namun dapat dilakukan proses amplifikasi pada DNA tersebut dengan menggunakan primer-STR dengan menggunakan alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada lokus-lokus yang terdaftar di dalam *Combined DNA Index System* (CODIS) (McDermid, 2014).

Identifikasi tempat kejadian perkara (TKP) dalam tindak pidana atau kejahatan pemerkosaan bertujuan untuk mencari bukti-bukti tentang tanda-tanda pergumulan, kekerasan, persetubuhan; yang dapat ditemukan berupa bercak air mani yang berasal dari deflerasi dan aksesoris lainnya seperti pakaian, sapu tangan, handuk, kertas yang diduga digunakan pelaku untuk menghapus air mani dari alat kelaminnya, serta benda-benda milik korban/tersangka yang dibuang atau tertinggal di tempat kejadian perkara, hasil temuan tersebut di lakukan penyimpanan kemudian diperiksa di laboratorium (Aflanie *et al*, 2017). Barang bukti tersebut seringkali sulit ditemukan di tempat kejadian perkara, dikarenakan pelaku kejahatan dalam melancarkan tindak pidananya sering menghilangkan jejak pada barang bukti yang digunakan, dengan cara mengubur ke dalam tanah dengan tujuan agar tindak pidana tersebut sulit di buktikan oleh aparat penegak hukum.

Keberhasilan analisis DNA ditentukan oleh kondisi/kualitas DNA yang digunakan sebagai bahan analisis (Yudianto, 2015). Sampel dari cairan ejakulat berupa bercak sperma yang terdapat pada baju/kain di TKP ataupun cairan/swab vagina dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor luar yang dapat menurunkan kualitas DNA nya, dimana faktor-faktor tersebut menyebabkan kerusakan (damage) dari DNA, yakni; suhu/temperatur, waktu paparan, kelembapan, sinar UV dan enzim-enzim yang merusak DNA (Yudianto, 2015).

Penelitian ini bertujuan memberikan informasi untuk kepentingan forensik, yaitu dapat mengetahui efek lama paparan terhadap kualitas DNA dari bercak semen yang disimpan di dalam media tanah menggunakan metode STR-CODIS D5S818 dan D16S539. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental analitik, dengan rancangan eksperimental *time series design*. Sampel penelitian berupa 24 bercak semen pada kain berbahan katun berukuran 5 x 5 cm, jumlah cairan semen yang diteteskan sebanyak 3 tetes (0,15 ml) masing-masing kain katun, kemudian dipaparkan dalam media tanah pada suhu lingkungan (27-32 °C) yang diberikan kelompok perlakuan waktu paparan sampel di dalam media tanah sebanyak empat kali (4x), yakni pada hari ke1, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-20. Selanjutnya masing-masing kelompok perlakuan dilakukan pengukuran kadar dan kemurnian DNA pada bercak semen menggunakan *spectrophotometer UV* dan dilakukan elektroforesis dengan *Polyacrylamid Agarose Composit Gel* (PAGE) pada lokus D5S818 dan D16S539.

Hasil penelitian pengukuran rerata kadar DNA pada bercak semen dengan lama paparan sampel di dalam media tanah yakni pada hari ke1, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-20 menggunakan *UV-Visible Spectrophotometer* didapatkan pada hari 1 ($304,5 \pm 52,1 \mu\text{g/ml}$), hari 7 ($376,8 \pm 161,9 \mu\text{g/ml}$), hari 14 ($314,4 \pm 41,2 \mu\text{g/ml}$), dan hari 20 ($363,7 \pm 216,2 \mu\text{g/ml}$). Hasil uji statistik non parametric *Kruskal Wallis* menunjukkan tidak terdapat pengaruh efek lama paparan (1,7,14 dan 20 hari) media tanah pada suhu lingkungan terhadap kualitas DNA dari bercak semen (nilai yang didapat sig. $p : 0.172$, batas sig. $p > 0,05$).

Untuk mengetahui efek lama paparan media tanah terhadap kualitas DNA pada bercak semen dengan menggunakan motode STR-CODIS lokus D5S818 D16S539 melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada hari ke-1, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-20 menunjukkan visualisasi hasil PCR lokus D5S818 (119-155 bp) pada kadar DNA terendah dengan rata-rata kadar DNA (189-283.5 $\mu\text{g/ml}$) tidak

terdeteksi dengan pita *band* (0%), sedangkan pada kadar DNA tertinggi dengan rata-rata kadar DNA (546-882 µg/ml) semua sampel terdeteksi (100%) dan menunjukkan pita *band* yang tipis/samar. Visualisasi hasil PCR lokus D16S539 (264-304 bp) menunjukkan semua sampel terdeteksi (100%) dengan pita *band* yang tebal/jelas pada semua perlakuan lama waktu paparan.

Kadar DNA merupakan salah satu faktor penting dalam melakukan pemeriksaan analisis kualitas dan kuantitas DNA terutama terhadap keberhasilan amplifikasi pada sampel-sampel DNA baik yang masih segar maupun sudah hancur atau dalam kondisi terdegradasi. Jumlah kadar DNA yang dibutuhkan dalam analisis DNA berbeda-beda tergantung dari kebutuhan dan jenis pemeriksaan. Pada pemeriksaan menggunakan metode *Short Tandem repeat* (STR) hanya membutuhkan konsentrasi DNA minimal antara 1 – 20 ng (Carracedo, 2005; Yudianto, 2006).

Peningkatan Kadar DNA dalam penelitian ini terjadi pada hari ke-7 sebesar 376,8 µg/ml dan pada hari ke-20 sebesar 363,7 µg/ml, hal tersebut dipengaruhi oleh media tanah dan media sampel yang digunakan adalah kain katun. Media tanah yang digunakan merupakan bahan mineral yang tidak padat (*uncosoldated*) secara kimiawi berfungsi sebagai gudang dan penyuplai hara atau nutrisi (senyawa organik dan anorganik sederhana dan unsur-unsur esensial), secara biologis berfungsi sebagai habitat biota (organisme) yang berpartisipasi aktif dalam penyediaan hara dan zat-zat aditif (pemacu tumbuh, proteksi) bagi tanaman (Hanafiah, 2013).

Media kain katun memiliki permukaan yang besar, memiliki sifat tahan panas dan lembut, memiliki sifat yang kuat dalam keadaan basa dan dapat menyerap cairan (higroskopis), sehingga menjadikan kain katun sebagai media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme (Noerati *et al*, 2013) meskipun dalam keadaan di simpan di dalam tanah dengan kadar air pada media tanah sebesar 61,94 % pada variasi lama waktu penyimpanan. Semakin lama sampel bercak sperma pada kain katun di simpan di dalam tanah semakin banyak komponen senyawa organik dan anorganik serta organisme di dalam tanah, termasuk DNA sampel bisa menyerap kedalam serat kain katun dalam waktu yang lama.

Perbedaan visualisasi hasil elektroforesis dengan *Polyacrylamid Agarose Composit Gel* (PAGE) lokus D5S818 menunjukkan pada kadar DNA terendah dengan rata-rata kadar DNA (189-283.5 µg/ml) tidak terdeteksinya pita *band* dan pada kadar DNA tertinggi dengan rata-rata kadar DNA (546-882 µg/ml) terdeteksinya pita *band* yang tipis/samar pada semua perlakuan lama waktu paparan. Visualisasi pada lokus D16S539 menunjukkan semua sampel terdeteksi dengan pita *band* yang tebal/jelas pada semua perlakuan lama waktu paparan.

DNA terdegradasi melalui berbagai mekanisme baik secara enzimatis dan melalui proses kimia. Adanya perbedaan hasil visualisasi pita/band DNA yang terbentuk dari lokus lokus D5S818 (119-155 bp) dan lokus D16S539 (264-304 bp) terjadi karena pada sampel mengalami proses degradasi DNA yang dapat menyebabkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan. Perbedaan visualisasi pita/band DNA dalam penelitian ini dapat disebabkan karena ukuran masing-masing lokus yang berbeda yakni pada lokus D5S818 merupakan kromosom autosomal nomor 5 dengan ukuran 123.139 Mb lebih panjang dari lokus D16S539 yang merupakan kromosom autosomal nomor

16 dengan ukuran 84.994 Mb (butler, 2010) yang dapat terdegradasi yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Penyebab lainnya yaitu komponen bahan kimia yang terdapat di dalam tanah dalam penelitian ini yang terdiri atas komponen bahan kimia meliputi senyawa organik dan anorganik sederhana dan unsur-unsur esensial (Natrium, Posphat, Kalium, Calsium, Magnesium, Sulfur, Zink, Mangan, Clorida dan lain-lain), serta habitat biota (organisme) makro dan mikro dapat menyebabkan terjadinya inhibitor dalam proses amplifikasi PCR sehingga terjadinya Kegagalan proses amplifikasi yang ditandai dengan tidak adanya *band* pada hasil elektroforesis.

Degradasi DNA merupakan salah satu penyebab kegagalan deteksi DNA pada pemeriksaan analisis DNA dengan metode PCR. Menurut Yudianto (2010), beberapa kemungkinan yang menyebabkan kegagalan deteksi DNA antara lain: jumlah DNA target yang minimal, degradasi DNA sehingga primer tidak dapat menempel, kurangnya DNA *polymerase* dan siklus PCR serta adanya inhibitor PCR. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh efek lama paparan (1,7,14 dan 20 hari) media tanah pada suhu lingkungan terhadap kualitas DNA dari bercak semen.

SUMMARY

**Analysis of the Effects of Long Exposure to Soil Medium on DNA Quality
from Semen Stains Using *Short Tandem Repeat Combined
DNA Index Method (STR-CODIS D5S818 and D16S539)***

Heribertus Agustinus Bilo Tena

Crime or criminal act inspection can be conducted through various efforts and methods by law enforcement officials to obtain necessary evidences aimed to uncover the truth in a criminal case both at preliminary inspection stage, such as at investigation and prosecution process, as well as at the trial stage of a criminal act (Lubis, 2017).

Crime problems in society are very complex and prone in nature and always attract attention to be discussed. Crime problems can be understood because a criminal act is an act of behavior that is against the law and is harmful to society. Criminal acts or crimes that develop in society consist of various forms and types (Ovilastisa, 2017). Criminal acts or crimes in Indonesia are generally regulated in legal regulations, one of them is the Criminal Code (KUHP). An example of a form of crime is rape. Rape case is a crime against decency that is difficult to prove directly even though in that case investigators have conducted a complete examination and collected criminal act's evidences at the crime scene (Kalangit et al, 2013).

Solving a criminal case will include an investigation process in it, where observation of physical evidence and interpretation of evidence analysis results are the main means of investigation (Putri & Yudianto, 2016). The identification process using DNA varies in terms of the methods used, one of which is through Short Tandem Repeat (STR) analysis (Aflanie et al, 2017). The key for this technique to be successful is through target DNA sequence amplification and minimizing non-target DNA amplification and by using the appropriate temperature at various stages of the process (Irianto, 2017). The amount of DNA found at a crime scene is sometimes very minimal, therefore an identification process could not be conducted. However, DNA amplification process could be conducted by using STR-primers through Polymerase Chain Reaction (PCR) tool at the loci listed in Combined DNA Index System. (CODIS) (McDermid, 2014).

Crime scene identification in a rape act aims to seek evidence regarding signs of struggle, violence, and sexual intercourse; which could be found in the form of semen stains originating from defloration and other accessories such as clothes, handkerchiefs, towels, and paper that are allegedly used by the perpetrator to wipe semen from his genitals, as well as objects belonging to the victim/suspect that were dumped or left at the crime scene, where the findings are stored and examined

further in the laboratory (Aflanie et al, 2017). Evidence is often difficult to find at the crime scene because the perpetrator often removes the evidence traces when the perpetrator committed his crime by burying it in the ground to prevent law enforcement officials from proving the crime.

DNA analysis success is determined by DNA condition/quality as analysis material (Yudianto, 2015). Samples of ejaculate fluid in the form of sperm stains found on clothes/cloth at the crime scene or vaginal fluids/swabs might be influenced by external factors that could reduce DNA quality, which are: temperature, exposure time, humidity, UV rays and enzymes that damage DNA (Yudianto, 2015).

This study aimed to provide information for forensic purposes, which was to determine the effect of exposure time on DNA quality from semen stains stored in soil medium using STR-CODIS D5S818 and D16S539 methods. This was an analytical experimental study with a time series experimental design. The study sample consisted of 24 semen stains on 5x5 cm cotton clothes, the amount of semen liquid that was dropped was 3 drops (0.15 ml) for each cotton cloth, where it was exposed to soil medium at room temperature (27-32°C). where the treatment group received four different exposure times to soil medium, which is 1-, 7-, 14- and 20-days. Furthermore, each treatment group was measured for its DNA level and purity on semen stains using a UV spectrophotometer and electrophoresis was conducted with Polyacrylamide Agarose Composite Gel (PAGE) at D5S818 and D16S539 loci.

The result of mean DNA level measurements on semen stains who were exposed with soil medium for 1-, 7-, 14- and 20-days using UV-Visible Spectrophotometer were as followed: 1 day = $304.5 \pm 52.1 \mu\text{g/ml}$, 7 day = $376.8 \pm 161.9 \mu\text{g/ml}$, 14 day = $314.4 \pm 41.2 \mu\text{g/ml}$, and 20 day = $363.7 \pm 216.2 \mu\text{g/ml}$. The results of Kruskal Wallis's non-parametric statistical test showed that there was no effect of soil medium exposure time (1-, 7-, 14- and 20-days) at ambient temperature on DNA quality from semen stains (sig. p: 0.172, limit sig. P>0.05).

To determine the effect of exposure time to soil medium on DNA quality from semen stains, STR-CODIS method was used on D5S818 and D16S539 loci through Polymerase Chain Reaction (PCR) on treated samples. PCR results visualization of D5S818 locus (119-155 bp) on the lowest DNA level with a mean DNA level of 189-283.5 $\mu\text{g/ml}$ showed no detectable band (0%), whereas at the highest DNA levels with mean DNA level of 546-882 $\mu\text{g / ml}$ showed that all samples were detected (100%) and a thin/faint band appeared. PCR results visualization for D16S539 locus (264-304 bp) showed that all samples were detected (100%) with a thick/clear band in all exposure time.

DNA level is also an important factor in analyzing DNA quality and quantity, especially for the success of DNA samples amplification, either it is fresh or destroyed or in degraded conditions. The number of DNA levels used in forensic DNA analysis varies depending on the method and type of examination. In Short Tandem repeat (STR) method, it only requires a minimum DNA concentration between 1 - 20 ng (Carracedo, 2005; Yudianto, 2006).

In this study, DNA level were increased on the 7-day (376.8 µg/ml) and on the 20-day (363.7 µg/ml). These increases were influenced by the soil media and the cotton cloth as sample media. Soil media that was used was unconsolidated mineral material, which chemically functions as a warehouse and supplier of nutrients (simple organic and inorganic compounds and essential elements), biologically functions as a habitat for biota (organisms) that are active in nutrients and additives supply (growth promoters, protection) for plants (Hanafiah, 2013).

Cotton cloth media has a large surface, is heat resistant and soft, has strong properties in an alkaline state and could absorb fluids (hygroscopic), thus making cotton cloth a good medium for microorganism's growth (Noerati et al., 2013) although it is stored in soil with water content of 61.94% at various storage time. The longer the sperm stain sample on cotton cloth is stored in the soil, the more organic and inorganic compounds components and organisms in the soil, and DNA sample could be absorbed into the cotton cloth for a long time. This study is in accordance to a study conducted by Furqoni et al in 2017 regarding DNA quality of sperm stains on cotton cloth using fresh water media, where they found that the DNA level and purity had increased significantly with certain exposure time, this occurred because the sperm stain on cotton cloth that was soaked in fresh water media had strong properties in wet conditions where it had high water absorption property (hygroscopic).

The difference in electrophoresis results visualization with Polyacrylamide Agarose Composite Gel (PAGE) at D5S818 locus showed that the lowest DNA levels with mean DNA level of 189-283.5 µg/ml was not detected for the band, and at the highest DNA level with mean DNA level of 546 -882 µg/ml, thin/faint band was detected on all treated samples for all exposure time. Visualization at D16S539 locus showed that all samples were detected with a thick/clear band on all treated samples for all exposure time.

DNA is degraded through various mechanisms, both enzymatically and through chemical processes. The difference in DNA bands visualization results formed from D5S818 locus (119-155 bp) and D16S539 locus (264-304 bp) occurred because the sample underwent DNA degradation process, which caused the primer to be unable to attach to DNA target to be duplicated. The difference in DNA bands visualization in this study could be due to the different size of each locus, which was D5S818 locus that is an autosomal chromosome number 5 with a size of 123,139 Mb, which is longer than D16S539 locus which is an autosomal chromosome number 16 with a size of 84,994 Mb (Butler, 2010) that could be degraded which is influenced by environmental factors.

Another cause is the chemical components found in the soil in this study that consisted of chemical components including simple organic and inorganic compounds and essential elements (sodium, phosphate, potassium, calcium, magnesium, sulfur, zinc, manganese, chloride and others), as well as macro and micro biota (organism) habitats that could act as inhibitors in PCR amplification process resulting in failure of amplification process that was indicated by the absence of bands in electrophoresis results.

DNA degradation is one of the causes for DNA detection failure in DNA analysis using PCR method. According to Yudianto (2010), several possibilities that cause DNA detection failure include: a minimal amount of target DNA, DNA degradation therefore the primer could not stick, a lack of DNA polymerase and PCR cycle and the presence of a PCR inhibitor. Based on the study results that has been conducted, it can be concluded that there was no effect of soil medium exposure time (1-, 7-, 14-, and 20-days) at ambient temperature on DNA quality from semen stains.