

1. SEX DETERMINATION

2. DNA, IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

3. FOURIER ANALYSIS.

Diterbitkan untuk  
Ujian Tahap II

## DISERTASI

### PENENTUAN JENIS KELAMIN

### MELALUI ANALISIS DNA

### DAN MORFOMETRI DENGAN ANALISIS FOURIER

### PADA TENGGORAK

KK  
Dik  
Dik K 32 /02  
Soe  
P.



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

INDRAYANA NOTO SOEHARDJO

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

1999

**PENENTUAN JENIS KELAMIN  
MELALUI ANALISIS DNA  
DAN MORFOMETRI DENGAN ANALISIS FOURIER  
PADA TENGGORAK**

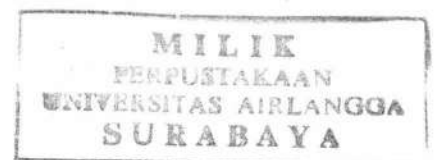
Disertasi  
Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Ilmu Kedokteran  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga

**Prof H Soedarto dr, DTM&H, PhD**

Untuk dipertahankan di hadapan  
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga

**INDRAYANA NOTO SOEHARDJO**

**NIM 099411571D**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**1999**

Lembar Pengesahan

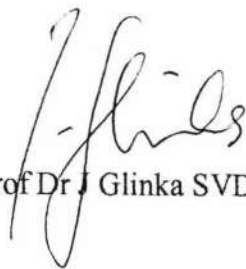
Disertasi ini disetujui untuk diuji pada ujian tahap II  
Tanggal 31 Agustus 1999

Oleh:  
Pembimbing Utama



Prof Haroen Atmodiriono, dr, DSF  
NIP 130 206 139

Pembimbing



Prof Dr J Glinka SVD

Telah diuji pada ujian tertutup

Tanggal 25 Agustus 1999

---

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

Ketua Prof Dr Suhartoyo, drh, MSc

Anggota : 1. Prof Haroen Atmodiriono, dr, SPF  
2. Prof Dr J Glinka SVD  
3. Prof Dr Abdul Salam Sofro, dr  
4. Prof Dr Juliati Hood A, dr, MS, SpPA, FIAC  
5. Prof Dr Djoko Salamoen drg MS  
6. Dr Widodo P, dr, MPH  
7. Dr FM Judajana, dr, SpPK  
8. Soegeng Soekamto, dr, MS, PhD, SpPA

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan YME atas segala rahmat karunia dan penyertaan-Nya sehingga setelah menempuh serangkaian penelitian dan penulisan, disertasi ini akhirnya dapat saya selesaikan.

Menyadari bahwa disertasi ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dan peran serta berbagai pihak maka perkenankan saya dengan setulus hati mengucapkan terima kasih kepada Yth:

Prof Haroen Atmodiriono, dr, Sp F selaku Promotor dan pendidik yang penuh perhatian dan tanggung jawab telah menghantar saya dari awal hingga akhir pendidikan program Doktor. Segenap dedikasi, yang beliau berikan mengingatkan terhadap langkah pemikiran saya, tentu sulit untuk dilupakan. Banyak bantuan dan saran diberikan sebagai petunjuk praktis berkaitan dengan penelitian.

Prof Dr H J Glinka, SVD yang secara tulus menyediakan diri sebagai Ko-Promotor yang sejak awal pendidikan telah memberikan dorongan, bimbingan, bantuan, inspirasi dan doa tanpa mengenal lelah. Beliau telah banyak memberikan penambahan ilmu khususnya bidang antropologi ragawi serta arahan tentang penelitian berkonsep yang sangat mendasar dan penting bagi penyelesaian disertasi ini. Seluruh bimbingan, bantuan dan dukungan yang selama ini disampaikan dengan penuh kesabaran sangat besar maknanya bagi keberhasilan saya menempuh pendidikan doktor ini.

Rektor Universitas Airlangga, Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD dan mantan Rektor Universitas Airlangga Prof H Bambang Rahino Setokoesoemo, dr, yang telah memberikan kesempatan mengikuti pendidikan Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Soedijono, dr dan Staf yang telah memberikan kesempatan dan dorongan dari awal sampai akhir pendidikan program Doktor.

Prof Dr Yajah Koswara, beserta team penilai Direktorat Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan yang telah sangat membantu penyelesaian penelitian disertasi ini dengan memberikan dana penelitian HIBAH BERSAING th 1997-1998 dan 1998-1999.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr Juliati Hood A, dr, MS, SpPA, FIAC dan mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof R Pitono Soeparto, dr, SpA(K) yang telah memberi petunjuk bermanfaat selama studi saya.

Staf pengajar program studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Airlangga atas segala bekal ilmu dan bimbingan yang telah diberikan kepada saya, Widodo J Pudjirahardjo, dr, MS, MPH, DrPH; Dr FM Judajana, dr. ; Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS; yang selalu memberikan arahan praktis dan masukan hal yang berkaitan dengan pokok materi penelitian serta dorongan moral pada saat saya menghadapi kesulitan selama penelitian dan penulisan disertasi ini. Juga kepada Prof Bambang Rahino Setokoesoemo dr; Prof Abdul Gani, SH, MS; Prof Eddy Pranowo Soedibyo, dr, MPH; Prof Dr Pitono Soeparto, dr, DSAK; Prof Poernomo S, dr; Prof. Amitaba drh, ; Prof H J Glinka, SVD; Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD; Prof Sutandyo Wignjosubroto, Dr Sarmanu, drh, MS; Dr. Siti Pariani, dr. ; Dr. Theodorus I Setiawan dan staf pengajar yang lain yang selama ini telah dengan ikhlas memberikan tambahan bekal ilmu dan wawasan yang sangat berguna.

Panitia Seminar penilaian disertasi : Prof dr. Haroen Atmodirono , SpF; Prof. H J Glinka, SVD; Prof Dr Soehartoyo H, drh, M.Sc; Prof Dr Soekotjo Djokosalomoen, drg, M.Sc; Prof Dr Juliati Hood A, dr, MS, FIAC; Sugeng Soekamto, M. , dr ,MS, Ph.D, DSPA; Widodo J P, dr, MS, MPH, DrP;; Dr F M Judajana, dr, yang telah tanpa lelah memberikan masukan dan saran untuk penyempurnaan disertasi ini.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof.Dr. H. M.S. Wijadi, dr., Sp.THT dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof Dr Askandar TJ ,dr, Sp PD beserta staf atas rekomendasi, ijin, perhatian serta dorongan yang diberikan kepada saya selaku staf pengajar untuk terlaksananya pendidikan Program Doktor.

Direktur RSUD Dr Soetomo Surabaya yang telah memberikan ijin untuk melaksanakan pemeriksaan dan mendapatkan sampel penelitian.

Kepala dan staf UPF Ilmu Kedokteran Forensik Fakultas Kedokteran RSUD Dr Soetomo yang telah mengizinkan dan memberi kesempatan untuk mengikuti pendidikan program strata 3 dan melakukan penelitian untuk penyelesaian disertasi.

Kepala dan staf UPF Radiologi RSUD Dr Soetomo Surabaya yang telah membantu mendapatkan CT Scan lateral tengkorak. Kepala dan staf Laboratorium Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah meminjamkan koleksi tengkorak.

Prof Dr Yoes Priatna Dahlan, dr, MSc, Kepala Tropical Disease Centre Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin dan fasilitas menggunakan laboratorium bersama. Bp. Kusen analis Laboratorium Bersama yang telah banyak membantu dalam segi praktis penelitian Biologi Molekuler.

Dr Nugrohowati drg MS yang telah banyak membantu dalam memberikan dorongan dan masukan dan tanpa lelah melakukan editing dalam penyusunan disertasi ini.

Sdr Abdul Kholik, staf laboratorium komputasi jurusan statistik fakultas MIPA ITS, yang telah membantu dalam penyajian analisis data penelitian untuk disertasi ini. Dr. Mieke S drg, MS, yang telah membantu dalam melakukan tracing foto cephalogram, Agus Darwanto, SPd, MKes, yang telah membantu dalam penyusunan naskah. Staf GRAMIK F K Unair, perpustakaan FK, dan FKG Universitas Airlangga yang telah membantu dalam penelusuran kepustakaan.

Rekan mahasiswa Program Studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Unair khususnya angkatan 1994-1995.

Yang tersayang Ayahanda alm. Drg Noto Soehardjo dan ibunda Handriati Mariana yang dengan kasih sayang telah mendidik dan membesarkan saya, dan selalu berdoa demi keberhasilan pendidikan saya.

Yang tercinta Isteri Listya Sidharta, S.Kom. dan kedua ananda Ir. Neva Nindya dan Sistha Nindita, B.Sc. Geront. atas segala pengorbanannya dan senantiasa memberi semangat dan doa bagi keberhasilan pendidikan saya. Kepada Alm. Ayah mertua Sikha Sidharta dan Alm.Ibu Mertua Loana Sidharta yang telah banyak memberi nasehat dan teladan semasa hidupnya, juga tak lupa kepada Kakak dan Adik yang telah memberi dorongan dan doa.

Semua pihak yang ikut membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang mungkin belum saya sebutkan dalam ucapan terima kasih ini.

Akhirnya dengan segenap kerendahan hati saya sebagai manusia biasa mohon maaf atas segala kekurangan.



## RINGKASAN

### Ringkasan Penelitian bidang Antropologi Ragawi

DNA profiling telah diakui sebagai suatu sarana yang canggih untuk membantu pihak penyidik dan penuntut umum dalam perkara tindak pidana, maupun untuk identifikasi kerangka dan sisa-sisa tubuh korban pada kasus-kasus kriminal, serta dalam perkara perdata dan pelanggaran hak asasi.

Meskipun *DNA profiling* dengan analisis *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)* diakui sebagai sarana yang dapat dipercaya untuk analisis DNA guna identifikasi bahan forensik, namun tidak semua barang bukti dapat selalu menghasilkan DNA yang cukup baik kualitas maupun kuantitasnya untuk analisis *RFLP*. Metoda *PCR-based typing* sekarang menjadi metoda utama untuk identifikasi untuk DNA yang sudah terdegradasi oleh proses pembusukan atau yang jumlahnya sedikit.

Penentuan jenis kelamin merupakan langkah pertama yang harus dikerjakan untuk identifikasi seseorang. Penentuan jenis kelamin melalui analisis DNA dengan metode PCR memerlukan tiga tahapan yaitu: (1) isolasi DNA, (2) amplifikasi menggunakan primer, dan (3) visualisasi DNA setelah elektroforesis. Sesuai dengan tahapan tersebut maka tujuan penelitian ini adalah: (1) menemukan suatu metode untuk isolasi DNA tulang yang **cepat, mudah dan murah dengan menggunakan bahan yang umum dan mudah** didapat, (2) menemukan *Primer PCR* yang akan menghasilkan perbedaan pita X spesifik dan Y spesifik yang lebih besar dari 100 bp sehingga mempermudah separasi DNA, dan (3) menemukan metode yang memungkinkan peningkatan visualisasi DNA pada gel agarosa biasa.

Tahap pertama pada penentuan jenis kelamin dengan analisis DNA ialah melakukan isolasi DNA tulang. DNA terdapat dalam setiap inti sel termasuk sel tulang. Sel tulang dikelilingi oleh matriks kristal hydroxyapatite yang keras terdiri dari kalsium dan fosfor sehingga untuk mengisolasi DNA tulang harus didekalsifikasikan lebih dahulu. Sebagian besar sampel **forensik dan paleoantropologi** harus dapat disimpan sebagai barang bukti dan dapat digunakan untuk pemeriksaan ulang. Beberapa prosedur isolasi DNA tulang seperti cara tradisional melalui **penghancuran dengan pemukulan** tulang yang telah dibekukan, terbukti tidak dapat diandalkan. Demikian pula penggilingan dengan gilingan kopi yang dapat digunakan untuk menanggulangi masalah di atas, ternyata teknologi tersebut memerlukan biaya tinggi di luar jangkauan para peneliti. Thomas dan Moore (1997)

mengemukakan metode untuk penghancuran fragmen tulang secara aseptik dengan penekanan menggunakan 2 sekrup stainless yang digabungkan dengan 1 baut stainless yang diletakkan dalam larutan nitrogen cair. Metode ini masih tetap sulit, memerlukan waktu yang lama dan mahal sehingga diperlukan metode baru.

Pada **tahap pertama** penelitian biologi molekuler ini telah berhasil dikembangkan suatu **teknik baru isolasi DNA** tulang berdasarkan konsep dekalsifikasi menggunakan *drill-pressed powdering* dan sonifikasi. Tulang dihancurkan dengan cara **dibor** menggunakan mesin bor. **sehingga berbentuk bubuk halus**. Hilangnya bubuk tulang selama proses pengeboran dapat diperkecil dengan menampung bubuk tersebut dalam tabung polypropylene 50 cc (nunc).

Sebanyak 1 gram bubuk tulang yang dihasilkan tersebut didekalsifikasi dengan 10 cc 0,5 M EDTA (pH 7.5). Setelah divortex, diinkubasi pada suhu 56<sup>0</sup>C dan disonifikasi dengan **alat ultrasonik** (33.000 Hz) selama 30 menit. Pellet yang terjadi kemudian dicuci dengan *deionized water*. Proses dekalsifikasi diulang dan dimonitor dengan penambahan larutan **ammonium oxalate** pH 3.0 jenuh. Jika dengan penambahan ammonium oxalate tersebut, larutan pellet tulang menjadi keruh berarti proses dekalsifikasi belum selesai. Proses dekalsifikasi dihentikan bila larutan tetap jernih walaupun diberi larutan ammonium oxalate. **Proses dekalsifikasi ini jauh lebih cepat dan lebih murah** dibanding metode yang telah ada, sehingga mengurangi waktu isolasi DNA tulang dari 4-5 hari menjadi 4-5 jam.

Isolasi DNA pada tulang yang telah didekalsifikasi dilakukan dengan menggunakan Ready AMP kit Promega. Kadar DNA hasil isolasi ditentukan dengan menggunakan "**DNA DipStick Kit**" dari INVITROGEN, berentang dari 5ng -10 ng/ul untuk sampel tulang dan >10ng/ul untuk sampel gigi. **Setelah diisolasi dan ditentukan kadar DNA maka selanjutnya akan digandakan dengan metode PCR untuk dapat dianalisis jenis kelaminnya.**

**Tahap kedua penelitian bio molekuler** ialah mencari **Primer PCR** yang sesuai dan akan menghasilkan perbedaan pita X spesifik dan Y spesifik lebih besar 100 bp sehingga mempermudah separasinya. Primer **Kit** untuk penentuan jenis kelamin yang dijual secara komersial (*sex identification system amelogenin primers* dari PROMEGA ) menghasilkan produk PCR **212-bp X-spesifik** dan **218-bp Y-spesifik** sebagai akibat adanya delesi 6 bp pada intron pertama *X homolog gene*

*amelogenin*. Perbedaan 6 bp tersebut untuk visualisasinya memerlukan teknik khusus yaitu PAGE -polyacrylamide gel electrophoresis menggunakan polyacrylamide 6% dan teknik pengecatan silver staining atau fluoresensi khusus yang alatnya mahal.

Pada tahap kedua penelitian ini telah berhasil dirancang primer PCR untuk penentuan jenis kelamin yang setelah penggandaan akan menghasilkan pita DNA 788-bp Y-spesifik dan 977-bp X-spesifik. Lokus yang akan digandakan merupakan bagian intron gen *amelogenin* homolog yang telah dipetakan dan dapat diakses melalui Genbank Database.

Pasangan primer yang dirancang adalah: 5'-CTGATGGTTGGCC TCAAGCCTGTG -3' dan 5'-TAAAGAGATTCATTA ACTTGACTG-3' dipesan melalui 'GENSET Singapore Biotechnology Pte Ltd'. Menggunakan primer ini dengan '*spanning*' suatu delesi 189-bp pada intron pertama dari Y homolog, akan dihasilkan 788-bp Y-spesifik dan 977-bp X-spesifik.

Optimasi proses PCR menghasilkan kondisi sebagai berikut : DNA sampel bervariasi dari 10 pg sampai 100 ng diamplifikasi dalam 25 ul *reaction mixture* menggunakan *PCR beads* dari Amersham yang mengandung 15 picoMol masing-masing primer.

Protokol amplifikasi adalah sebagai berikut:(1) inkubasi awal 95<sup>0</sup>C selama 4 menit untuk denaturasi, diikuti oleh (2) 35 *cycle* terdiri dari 1 menit pada 95<sup>0</sup>C, 1 menit pada 58<sup>0</sup>C untuk *annealing* dan 2,5 menit pada 72<sup>0</sup>C untuk *extenson* menggunakan "BIORAD Gene Cycler".

Sesudah amplifikasi, 5 ul produk PCR dan 100 bp DNA Ladder dijalankan pada agarosa 1,3%; tebal 2 mm (PROMEGA) dan diseparasi secara '*horizontal discontinue type electrophoresis*' yang **dirancang dan dibuat sendiri oleh peneliti**, menghasilkan produk PCR 977 bp X-spesifik dan 788 bp Y-spesifik. Hasil elektroforesis ditampilkan dengan menggunakan gel agarosa biasa dengan pengecatan *silver staining*.

**Keunggulan penentuan jenis kelamin dengan primer ini dibanding dengan primer komersiel ialah perbedaan antara X-spesifik dan Y-spesifik sebesar 189 bp sedangkan primer komersiel hanya menghasilkan perbedaan 6 bp. Perbedaan yang lebih besar dari 100 bp ini akan meningkatkan visualisasi pita DNA.**

Pada **tahap ketiga** penelitian biomolekuler juga telah **berhasil dikembangkan suatu metoda untuk DNA silver staining pada gel agarosa biasa**. Metoda yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah : (1) setelah elektroforesis gel direndam selama 10 menit dalam methanol 20% dan glycerol 2%, kemudian (2) untuk fiksasi direndam selama 5 menit dalam larutan 20% ethanol dan 5% glacial acetic acid pada suhu kamar. Setelah fiksasi gel direndam selama 15 menit dalam larutan  $\text{AgNO}_3$  0.1% lalu dicuci dengan  $\text{H}_2\text{O}$  *deionized* dingin untuk mengeliminasi perak yang berlebihan. Gel dikembangkan dalam larutan NaOH 1.5% dan formaldehyde 0.1% pada suhu dingin, sampai pita tampak dengan latar belakang yang berwarna kuning. Pengecatan dihentikan dengan larutan methanol 20% dan 10% acetic acid. Gel hasil pengecatan dengan  $\text{AgNO}_3$  difoto dengan '*back illumination*' (White Fluorescent Lamp 6500K 2 X 15 Watt). (**dibuat sendiri oleh peneliti.**)

Penelitian ini membuktikan bahwa *silver staining* dapat diterapkan untuk pengecatan DNA pada gel agarosa biasa sehingga **meningkatkan visualisasi penentuan jenis kelamin melalui PCR** yang lebih mudah dan relatif murah dibanding PCR kit komersiel. Metode baru pengecatan perak pada gel agarosa biasa ini akan memperjelas separasi dan sensitivitasnya sebesar 2,5 kali lebih sensitif dibanding fluorescent dye ethidium bromide.

Secara keseluruhan penelitian ini telah menghasilkan beberapa temuan, yaitu:

- (1) metode isolasi DNA tulang yang cepat dan murah,
- (2) rancangan primer PCR untuk penentuan jenis kelamin yang akan menghasilkan 977 bp X spesifik dan 789 Y spesifik. Dibanding dengan primer PROMEGA yang menghasilkan 212 bp X spesifik dan 218 bp Y spesifik (perbedaan 6 bp) maka perbedaan 189 bp hasil primer penelitian ini akan lebih jelas separasinya. Demikian juga penggunaan PCR lebih unggul dibanding penggunaan probe Y spesifik seperti pHY10 karena selain lebih murah juga terdapat kontrol internal untuk meyakinkan hasil tidak negatif semu.
- (3) keberhasilan mengembangkan metoda *DNA silver staining* pada agarosa yang mudah, murah dan cepat yang dapat menggantikan pengecatan dengan *ethidium bromide* **Karena kecepatan stabilitas dan kesederhanaannya maka metode ini cocok untuk aplikasi klinis rutin, menghindari penggunaan polyacrylamide, ethidium bromide yang karsinogen dan UV transilluminator dan film polaroid**

yang mahal. Diharapkan penemuan tersebut mendapatkan hak cipta tentang tehnik *Horisontal discontinue electrophoresis* dan *DNA Silver Staining* untuk agarosa gel *electrophoresis* yang dikembangkan dalam penelitian ini.

### **Ringkasan Penelitian bidang Antropologi Ragawi**

Penelitian bidang Antropologi ragawi ini merupakan suatu penelitian observasional cross sectional untuk menentukan jenis kelamin berdasarkan morfometri bentuk kepala dengan analisis Fourier dan analisis eliptical Fourier

Salah satu bantuan penting yang dapat dilakukan oleh seorang ahli antropologi forensik ialah menentukan jenis kelamin kerangka dalam upaya mengungkap identitas korban. Telah lama diketahui bahwa terdapat perbedaan seks antara tengkorak laki-laki dan perempuan yang penting untuk menentukan lebih lanjut keadaan dan ciri-ciri lain dari kerangka tersebut, seperti tinggi badan, populasi dan akhirnya mungkin dapat mengungkap identitas kerangka tersebut.(El-Najjar,1978; Rathburn, 1984, Krogman, 1986).

Dahulu pemeriksaan dilakukan dengan membedakan bentuk tengkorak dengan mata telanjang dan kemudian dilakukan secara matematis dengan melakukan pengukuran-pengukuran secara umum dan dilakukan analisis dengan statistik sederhana untuk membuat analisis deskriptif dari bentuk. Hal ini tidak dapat mengeliminasi faktor *size* dari bentuk (*shape*)(Inoue,1990). Kemudian dilakukan pengukuran dari titik-titik antropometris. Apabila ditemukan tengkorak secara utuh maka dapat dilakukan pengukuran secara lengkap dari titik-titik antropometris di kepala yang lazim disebut titik *kranimetris*, ada 31 pengukuran (Glinka,1990). Kemudian dibuat indeks-indeks yang selain memerlukan ketrampilan juga memerlukan pengetahuan dasar antropologi ragawi. Dengan menggunakan analisis diskriminan maka beberapa peneliti telah membuktikan ketepatan dalam menentukan jenis kelamin suatu tengkorak 82%-92% (Hong, 1992). Persoalan timbul apabila tengkorak yang ditemukan tidak utuh. Bagian depan kepala adalah bagian yang sering terakhir rusak dibandingkan bagian lain.

Penentuan jenis kelamin tengkorak secara kasar biasanya dilakukan dengan melihat antara lain bentuk tepi supraorbital, bentuk dahi bentuk orbita dan mandibula. Apabila bentuk bagian-bagian tengkorak tersebut dapat dikuantifikasi secara matematis maka penentuan jenis kelamin akan lebih mudah.

Penentuan jenis kelamin tengkorak secara morfometrik (kuantitatif) dengan fungsi diskriminan sebagian besar didasarkan pada jarak antara titik-titik antropometris dari tengkorak (Lestrel, 1974, Johnson, 1989, Hong, 1992). Informasi yang didapat dari teknik ini cukup untuk memprediksi besar (*size*) dari tengkorak, tetapi tidak bentuk *shapenya*. Suatu tengkorak dengan ciri-ciri yang jelas suatu tengkorak laki-laki seperti suprorbital yang menonjol, processus mastoideus yang besar tetapi ukuran tengkoraknya kecil dapat di *misclassified* sebagai perempuan bila digunakan *distance based discriminant function* (Inoue, 1990). Perbedaan jenis kelamin pada tengkorak lebih baik dituangkan dalam bentuk *shape* daripada dalam besarnya (Lestrel, 1974), tetapi cara konvensional dengan pengamatan bentuk adalah subjektif dan ketepatannya sangat tergantung pada pengalaman pemeriksanya. Steward (1948) melakukan seksing dengan mandibula dengan ketepatan hanya 77%. Hong (1992) melakukan penelitian untuk menentukan jenis kelamin tengkorak dengan menggunakan *multipel stepwise discriminat function analysis* pada 41 variabel ukuran yang diukur dari titik-titik antropometri dan dibuat dua rumus, satu dengan 14 variabel dan satu dengan 5 variabel yang dipilih dengan cara *multiple stepwise regression*. Hasil discriminat rate untuk rumus dengan 5 variabel adalah 92,7% sedangkan dengan 14 variabel adalah 96%. Inoue (1992) melakukan penelitian dengan menggunakan bentuk lateral tengkorak yang dikuantifikasi dengan mengukur jarak antara pusat auris eksterna dengan kontur tengkorak mulai dari rhinion sampai akar processus mastoideus. Lengkung tersebut dibagi dengan interval 5°. Hasilnya kemudian dibuat fungsi diskriminannya dan menghasilkan akurasi 86% untuk laki-laki dan 90% untuk perempuan. Kedua cara di atas selain rumit, memerlukan pengalaman untuk mengukur titik-titik antropometri (41 pengukuran) pada penelitian Hong, dan juga memerlukan tengkorak yang utuh, sedangkan sering pada kasus forensik tengkorak ditemukan tidak utuh dan bagian yang paling tahan terhadap kerusakan ialah bagian dahi.

Dalam penelitian ini telah dilakukan analisis Fourier dari dahi, belakang kepala, neurokranium dan mandibula. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mandibula adalah bagian yang paling tinggi nilai diskriminannya. Dari koefisien fungsi diskriminan dapat dibuat suatu program untuk penentuan jenis kelamin dengan menggunakan digitizer dan komputer. Penelitian juga menunjukkan bahwa

nilai harmonik nomor 3 ke atas lebih besar pada laki-laki dibandingkan perempuan. Hal ini menunjukkan bahwa bentuk tulang laki-laki secara kuantitatif lebih tidak rata dibanding tulang perempuan. Keuntungan lain adalah seseorang pemeriksa yang tidak terlatih sekalipun dapat menentukan jenis kelamin tengkorak dengan mudah hanya dengan mengikuti petunjuk yang sederhana.

Nilai diskriminan yang dihasilkan menunjang teori tumbuh kembang kraniofasial. Bagian belakang kepala merupakan bagian yang tidak banyak berubah baik pada laki laki maupun pada perempuan karena waktu lahir bentuk *neuro cranium* ini sudah mencapai 25% pertumbuhan optimal, pada umur 6 bulan mencapai 50% dan pada umur 10 tahun telah mencapai 95%, sedangkan wajah baru mencapai 65% pertumbuhan maksimal.

Penggunaan analisis Fourier dan *elliptical Fourier* untuk kuantifikasi *shape* bagian tengkorak guna menentukan jenis kelamin tengkorak secara antropologi ragawi terbukti meningkatkan nilai diskriminan bila dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang menggunakan pengukuran morfometri berdasarkan pengamatan yang sangat subjektif. Akurasi penentuan jenis kelamin tengkorak oleh Steward (1948) 77%, Steward (1951) 80%, Keen (1950) 85%, Giles (1970) 85-86%, Ischan (1989) 80-90% ( Graw, 1999).

Dibanding penentuan morfometri secara linear penentuan jenis kelamin dengan analisis Fourier meningkatkan nilai diskriminan ( $p=0,001$ ) dan meningkatkan koefisien *contingency* dari 0,551 menjadi 0,647

*Superimpose* bentuk rerata mandibula laki-laki dan perempuan membuktikan bahwa *procesus condylaris* dan *procesus coronoideus* adalah bagian mandibula yang mempunyai nilai diskriminan penentuan jenis kelamin tertinggi. Pada mandibula, nilai diskriminan antara laki-laki dan perempuan sangat tinggi (100%) disebabkan beberapa hal antara lain (1). kontraksi otot pengunyah menghasilkan peregangan pada bagian luar fibros yang menutupi kepala, sebaliknya tulang mengalami kompresi pada saat gigi oklusi;(2) Selama pertumbuhan dan perkembangan mandibula, tulang dibentuk pada condylus sehingga menyebabkan pertumbuhan ramus ke arah superoposterior yang juga disertai dengan deposisi pada permukaan dorsal bagian superior ramus (Sperber,1989).

Penemuan ini merupakan **indikator morfologi yang baru** untuk penentuan jenis kelamin kerangka manusia.