

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan panitia.....	v
Ucapan terima kasih.....	vi
Summary.....	x
Abstrak.....	xiv
Daftar Isi.....	x
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Gambar.....	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
Daftar Singkatan dan Istilah.....	xvii
Ringkasan.....	xviii
Summary.....	xxii
Abstrak.....	xxvi

<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Deoxyribo Nucleic Acid (DNA).....	6
2.2. KROMOSOM.....	10
2.3. AMELOGENIN.....	14
2.4. Y	
<b>KROMOSOM.....</b>	<b>17</b>
2.5. KOMPONEN URIN.....	20
2.5.1. Uretra.....	23
2.5.2. Sel Epitel Uretra.....	26
2.6. Isolasi DNA bercak urin.....	32
2.7. Penyimpanan Spesimen.....	33
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>	<b>34</b>
3.1 Kerangka Konsep.....	34

3.2 Teori Kerangka Konseptual.....	35
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>36</b>
4.1. Jenis Penelitian.....	36
4.2. Tempat Dan Waktu Penelitian.....	36
4.3. Sampel dan Besar Sampel.....	36
4.4 Bahan Penelitian.....	37
4.5. Alat Penelitian.....	37
4.6. Alur Penelitian.....	39
4.7. Cara Kerja.....	40
4.8. Analisis data.....	44
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>45</b>
5.1. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik.....	45
5.2. Hasil Pengukuran Kadar Dan Kemurnian DNA.....	47
5.3. Hasil Uji Amelogenin Perempuan Dan Laki-laki.....	49
5.4. Hasil Uji Amelogenin pada Bercak Urine Sampel.....	50
5.5. Hasil Uji Y kromosom (DYS19) Pada Bercak Urin Sampel.....	51
5.6. Analisis Hasil Penelitian.....	52
<b>BAB 6 PEMBAHASAN.....</b>	<b>54</b>

BAB 7 PENUTUP.....	61
7.1 Kesimpulan.....	61
7.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN.....	66
LEMBAR PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT.....	66
PERNYATAAN PERSETUJUAN.....	67



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Kadar dan Kemurnian DNA dari bercak urin sampel.....	47
Tabel 5.2 Hasil pembacaan visualisasi elektroforesis bercak urin sampel antara lokus Amelogenin dan Y kromosom (DYS19).....	52



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Penyusun Kromosom.....	11
Gambar 2.2 merupakan bentuk kromosom secara umum.....	11
Gambar 2.3 Tipe kromosom.....	13
Gambar 2.4 merupakan bentuk 23 pasang kromosom manusia.....	14
Gambar 2.5 pola-pola warisan dari mengkombinasikan ulang penanda genetik autosomal dan penanda garis keturunan dari kromosom Y dan DNA mitokondria...18	18
Gambar 2.6 Skema yang menggambarkan jenis-jenis profil autosomal dan Y-STR..19	19
Gambar 2.7 Uretra orifice.....	24
Gambar 2.8 Sel Epithel yang terdapat dalam urin.....	28
Gambar. 5.1 Epithel Tesselated.....	45
Gambar 5.2 Epithel Squamous.....	45
Gambar.5.3 Epithel Squamous.....	46
Gambar 5.4 Epithel Squamous.....	46
Gambar 5.5 Perbandingan Hasil Uji Amelogenin.....	49
Gambar 5.6 Hasil Uji Amelogenin pada bercak urin sampel.....	50
Gambar 5.7 Hasil Uji Y Kromosom (DYS19) pada bercak urin sampel.....	51

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Pernyataan bebas plagiat Persetujuan.....	66
Lampiran 2 : Pernyataan Persetujuan responden.....	67
Lampiran 3 : Kelaikan etik.....	68
Lampiran 4 : Alat Penelitian.....	69



## DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

- DNA : *Deoxyribo Nucleotic Acid*
- PCR : *Polymerase Chain Reaction*
- LTR : Long Tandem Repeat
- Mt DNA : Mitochondria DNA
- RFLP : Restriction Fragmen Length Polymorphism
- VNTR : Variable Number Of Tandem Repeat
- RNA : *Ribo Nucleid Acid*
- STR : Short Tandem Repeat
- TKP : Tempat Kejadian Perkara
- UV : Ultra Violet
- TBE : Tris Boric EDTA



## RINGKASAN

BERCAK URINE UNTUK IDENTIFIKASI FORENSIK JENIS KELAMIN  
DENGAN LOKUS AMELOGENIN DAN Y KROMOSOM (DYS19)

Penentuan Jenis kelamin seseorang sangat penting untuk penyidikan sampai putusan hukuman di tingkat lebih lanjut sampai akhirnya pemutusan perkara di pengadilan. Penggunaan tes profil DNA forensik di kedokteran gigi menawarkan perspektif baru dalam identifikasi manusia. DNA bertanggung jawab untuk menyimpan semua materi genetik dan unik untuk setiap individu. Tes DNA saat ini tersedia memiliki keandalan yang tinggi dan diterima sebagai bukti hukum di pengadilan.

Pada penelitian ini untuk menentukan jenis kelamin peneliti menggunakan tes DNA gen Amelogenin, uji Amelogenin ini sudah tersedia berupa kit Polymerase chain reaction (PCR) yang dipasarkan secara komersial. Uji jenis kelamin Amelogenin paling banyak digunakan untuk identifikasi jenis kelamin manusia yang berperan penting dalam pemecahan kasus forensik, diagnosis prenatal, data base DNA dan penyimpanan sampel darah (Lattanzi et al .2005). Gen Amelogenin merupakan gen salinan tunggal yang terletak di kromosom X dan Kromosom Y, lokasi gen Amelogenin untuk identifikasi seks kromosom memiliki variabilitas baik antara bentuk kromosom X dan bentuk kromosom Y dan antara alel Amelogenin antar populasi berbeda dikarenakan Amelogenin tidak mengkombinasi kromosom Y yang secara efektif mengisolasi tekanan seleksi secara normal (Akane .1998).

Pada kasus forensik tidak dapat dipastikan barang bukti apa yang tertinggal di TKP, dalam ilmu forensik apapun yang tertinggal di TKP itu bisa dijadikan barang bukti. Kecanggihan teknologi dan semakin modernnya tingkat tindak kejahatan sekarang ini menjadikan pelaku tindak kejahatan lebih cepat dan rapi dalam melakukan kejahatannya, hal ini yang sering membuat penyidik terkecoh dan sulit mendapatkan

barang bukti tindak kejahatan,. Kejadian dengan minimnya barang bukti dan telah terdegradasinya barang bukti pada tindak kejahatan menjadi inspirasi peneliti ingin membantu mencari solusi guna identifikasi jenis kelamin melalui bercak urin, sejauh ini identifikasi analisa Jenis Kelamin melalui bercak urin belum banyak dilakukan.

Tujuan dari penelitian ini adalah Membuktikan pemeriksaan bercak urin melalui analisis hasil isolasi DNA bercak urin menggunakan Amelogenin dan Y kromosom. Manfaatnya dapat dimanfaatkan untuk membantu penyidik dalam hal ini POLRI dalam menegakkan hukum di INDONESIA dan memberi tambahan informasi ilmiah bagi Ilmu Kedokteran Forensik terutama dalam identifikasi jenis kelamin seseorang.

Barang bukti bercak urin yang diteliti dengan metode biomolekuler DNA merupakan pemeriksaan alternative dalam mengidentifikasi Jenis Kelamin pada kasus forensik, dalam kondisi tertentu hanya sampel bercak urin yang ditemukan. Setiap tindak pidana pasti meninggalkan barang bukti dari pelaku atau korban barang bukti ini merupakan bahan pemeriksaan yang paling bermakna dalam mengungkap dan menjadi terangnya suatu perkara. Setiap sel somatic berinti manusia dapat diambil sebagai sampel dalam pemeriksaan analisis DNA, karena setiap sel somatic berinti dalam tubuh seseorang memiliki rangkaian DNA Identik (Notosoehardjo,2003).

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional, untuk membuktikan Identifikasi jenis kelamin melalui isolasi DNA dari bercak urin. Tempat Penelitian dilakukan di Departemen Odontologi Forensik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan kelompok studi Human Genetic Institute Of Tropical Disease (ITD) Universitas Airlangga kampus C Mulyorejo Surabaya. Waktu Penelitian bulan Desember 2013 sampai Desember 2014, Besar Sampel dalam penelitian ini adalah 9 sampel. Spesimen bercak urine diambil dari urine sampel yang terdapat sel epitel dari saluran uretra, urine sampel tersebut ditetaskan sebanyak 2 tetes (30 $\mu$ l) pada kain katun,

responden berjenis kelamin laki-laki, usia 25 – 60 tahun, Kadar DNA hasil isolasi untuk typing minimal 20 ng/μl (Notosoehardjo,1999, Gatut et al,2004) dan kemurnian DNA 1-2 (Ideal 1,8-2) untuk memungkinkan PCR.

Kain yang mengandung bercak urin dari Pakaian dalam responden, potong masukkan ke tabung falkon dan rendam dengan destiled water (DW) 5-10 ml, di vortex-sonicasi sebanyak 5 kali dan inkubasi selama 24 jam. Diambil endapan secukupnya untuk pemeriksaan mikroskopik untuk mencari sel epitel uretra, Selanjutnya cairan diambil dan sentrifuge 12000 rpm 10 menit 40C , Supernatan dibuang dan pada pellet dilakukan isolasi DNA dengan DNAzol. Tahap selanjutnya adalah dilakukan pengukuran kadar dan kemurnian DNA, Pengukuran jumlah DNA melalui UV-Spectropotometer didasarkan pada prinsip iradiasi sinar Ultra violet yang diserap oleh nukleotida dan protein dan larutan pemeriksaan ini didasarkan pada banyaknya sinar UV yang diserap oleh larutan DNA yang berbanding lurus dengan banyaknya DNA dalam sampel. Penyerapan sinar UV secara maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang ( ) 280 nm. Penentuan kadar DNA (μg/ml)= hasil baca ( 260) x factor pengencer x 50μl/ml. 1 OD(Optimal densitas)= 50μg/ml untuk Double Strand(DS) DNA.

Sel Epithel yang ditemukan pada bercak urin sampel dengan jumlah yang sangat sedikit sekali, satu sampel hanya ditemukan 1-2 Epithel saja dari keseluruhan lapangan pandang. kadar DNA hasil isolasi dari bercak urin sampel sangat bervariasi yakni antara rentang 4263 -6520,5 ng/μl dan kemurnian DNA 1,135 – 2,570. visualisasi elektroforesis lokus Amelogenin pada bercak urin sampel yang semuanya benar laki-laki, terlihat jelas perbedaan hasil uji pada sampel 1,2,6,7,8,9 menunjukkan identik pada 106 bp, 112 bp, pada pembacaan dikatakan laki-laki (xy). Hasil Uji sampel 4,5 menunjukkan identic pada 106 bp, pada pembacaan dikatakan perempuan

(xx). Hasil uji sampel 3 tidak menunjukkan visualisasi karena terlalu pekatnya kadar dan konsentrasi DNA. visualisasi elektroforesis lokus Amelogenin pada bercak urin sampel yang semuanya benar laki-laki, terlihat jelas perbedaan hasil uji pada sampel 1,6,9 menunjukkan identik pada 232 – 268 bp, hasil uji sampel 2, 7,8 samar terlihat pita pada 232-268 bp, hasil uji 4,5 tidak menunjukkan pita pada uji Y kromosom ini. Hasil uji sampel 3 tidak menunjukkan visualisasi karena terlalu pekatnya kadar dan konsentrasi DNA.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa identifikasi jenis kelamin dari isolasi DNA yang berasal dari bercak urin melalui lokus amelogenin dan Y kromosom sebagian ada yang identik dan sebagian menunjukkan pada sampel laki-laki tervisualisasikan perempuan dan terlihat sangat jelas pada hasil ujinya sehingga pada dasarnya bercak urin dapat menjadi bahan alternative dalam identifikasi forensik seperti bahan identifikasi lain yang berasal dari darah, sperma, rambut, urin, bercak keringat, bercak darah, secret vagina, putung rokok, maupun dari sumber lainnya.

## SUMMARY

SPOT URINE FOR SEX DETERMINATION IN FORENSIC IDENTIFICATION  
WITH AMELOGENIN LOCUS AND Y CHROMOSOMES (DYS19)

Sex Determination in some cases is very important for an investigation step until a judgment in the court. The use of forensic DNA profiling tests in dentistry offers a new perspective on human's sex identification. DNA is used to be storing place for all the genetic and unique materials in each person. Now days, DNA tests have a high reliability to be accepted as evidence in a court of law.

In this research, amelogenin gene of DNA tests was used to determine the sex of human. In addition, the amelogenin test was available in the kits form of Polymerase Chain Reaction (PCR), and it was marketed. Amelogenin sex test was mostly used for identifying the sex of human in some forensic cases, prenatal diagnosing, DNA data base, and blood samples storing (Lattanzi W.2005). Amelogenin gene was a single copy gene located in an X chromosome and a Y chromosome. The location of amelogenin gene for identification of sex chromosome had had good variability between the form and the shape of the X chromosome and the Y chromosome and between amelogenin alleles among different populations. It was because the amelogenin had not been effectively combining the Y chromosome which was isolating selection pressure normally (Akane, A.1998).

In some criminal cases, everything could not be ascertained as evidence in the court. For forensic science, everything left in the criminal area could be evidence. Some investigators get troubles in finding the evidence from the criminal cases. One of the reasons is because of sophisticated technology and modern criminal action, so the criminals do their action fast and neatly. Criminal cases within minimum evidence

and degradation of evidence in criminal area make the researcher eager to know the solution for identifying sex determination from urine spot. In addition, this kind of research is rare done by others researchers.

The purpose of this study is to proof the examination urine spot through the analysis of the result of DNA urine spot isolation using amelogenin and Y chromosomes.

This research could be used to assist Indonesians National Police in doing some investigations for criminal cases and also could be used to be additional scientific information for Forensic Medicine especially in the identification of a personals' sex.

Urine spots which examined by using DNA biomolecules method was an alternative examining in sex determination identification for some criminal cases. In particular conditions, only some samples which could be found. In every single case, the actor or the victim always leaves their evidence(s) unintentionally. This evidence was/were important thing which help(s) the investigators found the answer of the case. Every somatic cell which has human essential in the evidence could be taken as a sample of DNA examination, because in every single core somatic cell in human's body has identical DNA chain (Notosoehardjo, 2003).

This research was an observation research for proofing sex determination identification through DNA isolation of urine spot. This research has been done in Faculty of Forensic Odontology Dentistry by group study of Human Genetic Institute of Tropical Disease (ITD), Airlangga University. It has been done from December 2013 until December 2014. There were 9 samples in this research. Urine spot specimen was taken from urine sample which has epithelia cell from urethra. This urine sample has been dropped twice (30 $\mu$ l) on a cotton. The volunteers are 25-60 years old of male. The level of DNA isolating for typing had at least 20 ng/ $\mu$ l

(Notosoehardjo,1999, Gatut et al,2004) and the purity of DNA around 1-2 (ideal 1, 8-2) for PCR possibility.

The cotton within urine spot from the volunteer had been cut and put in the falcon cylinder; and sunk in the 5-10 ml destiled water (DW); taken for vortex-sonication process five times; and incubated for 24 hours. Then, the sediment of this process was taken for microscopic examination in order to find the epithelia urethra cell. After that, the liquid was taken for centrifugation in 12000rpm for 10 minutes in the 40C, the Supernatant was removed; and the isolation DNA within DNA zol was done on the pellet. The purity and the level of DNA were measured; the DNA was also measured through UV- Spectrophotometer according to irradiation UV-light principle which reserved by nucleotide, protein, and the liquid. This measurement was done based on how much the UV-light which was reserved by the liquid of DNA and directly proportional with in how much DNA in the sample. The maximal reservation of UV-light by the protein was reached in ( ) 280 nm length of wave. DNA's amount determination ( $\mu\text{g/ml}$ ) = the result was ( 260) x retail factor x 50 $\mu\text{l/ml}$ . 1 OD (optimal density) = 50 $\mu\text{g/ml}$  for DS (double strand) DNA.

There was few epithelia cell which found in the urine spot. There were 1-2 epithelia cell could be found in one sample. The levels of the result of DNA isolation from urine spot were variable, it was 4263 until 6520, 5 ng/ $\mu\text{l}$ , and the purity of DNA was 1,135 until 2,570. The result of Electrophoresis locus Amelogenin visualization of sample urine spot said that there was DNA of male. It was shown from the difference of the result of sample examination in the number 1, 2, 6, 7, 8, 9; they were also identical in 106 bp, 112 bp, it was read as a male chromosome (xy). On the other hand, the results of sample examinations in the number of 4 and 5 identically shown in 106 bp, it was read as a female chromosome (xx). The third sample did not show



the visualization because of the thickest level and concentrate of DNA. The male visualization electrophoresis locus amelogenin on the urine spot sample was clearly shown in the differences of the examination result on 1, 6, 9 numbers identical in 232 – 268 bp, the result of sample examination of 2, 7, 8 numbers unclearly shown its stripes in 232-268 bp, the result of sample number 4 and 5 did not show this Y chromosome stripes. This third sample examination did not show the visualization because of the thickest level and concentrate of DNA.

From this research could be shown that sex determination identification from DNA isolation from urine spot through locus amelogenin and Y chromosome produced results: one part was identical and another part said that the female sign was clearly visualized in the male sample. It means that urine spot could be an alternative evidence for forensic identifying as like as other evidences such as sperm, hairs, urine, sweat, blood, secret vagina, cigarette, etc.