

ABSTRACT

Degraded DNA is a classical problem, not infrequently found by an expert in molecular forensic when they are conducting their duty in analyzing DNA, particularly in cases from mass disaster as well as other forensic cases, such as a crime in which there is an effort to eliminate the evidence (for example, burning the victim to become unidentifiable) (Coble et al, 2005). It is obvious that degraded DNA should be a concern for an expert in forensic DNA in his effort to help law enforcement by identifying the victim using DNA analysis.

Efforts have been taken to anticipate such problem, such as that done by Edson et al (2004) and Gabriel et al (2005) by creating primary design for degraded mtDNA using overlapping strategy to nucleotide region in d-loop area. Butler et al (2000) also tried to create primary mini STR from degraded DNA extracted from 15 years old bloodstain. However, until today there is no study that discloses the pattern of DNA sequence damage or degraded DNA due to extremely high temperature, which is often found in the cases of bomb explosion or burn. Burger (1999), for example, only studied DNA microsatellite in ancient skeletal remains. Chen L, Sun G, and Wu M (2000) only studied the effect of various environmental factors on (nuclear) DNA damage in dental pulp to identify sex without identifying DNA damage pattern resulting from those factors. By knowing the damage pattern or degraded DNA, efforts or anticipative actions in forensic DNA examination, for example, to create an appropriate primary design to amplify the degraded DNA, can be successfully done.

This study was a continuation of the previous one, where at the preliminary study it was found that mitochondrial DNA in teeth exposed to extreme heat of 350°C, 550°C, and 750°C for 10, 15, 20 minutes did not result in band pattern that matched with positive control in 310 bp amplicon product. It was suggested that mitochondrial DNA had been damaged or fragmented. To prove the presence of damage in mitochondrial DNA, in this study the mitochondrial DNA-extracted teeth, in addition to being burned at extreme temperatures of 350°C, 550°C, 750°C, were also burned at lower temperatures of 100°C, 200°C, 300°C each for 20 minutes. From this treatment, it was found that the nucleotide sequence pattern in mitochondrial DNA of teeth burned at 100°C, 200°C, 300°C for 20 minutes, could still be identified at 310 bp amplicon product. In teeth burned above these temperatures, the nucleotide sequence at 310 bp amplicon product could not be identified, so that the pattern of damage was unrecognizable.

Keywords: extreme temperature, degraded mtDNA, mtDNA damage pattern

RINGKASAN PENELITIAN

Key words:., Temperatur ekstrim, Degraded mtDNA, Pola Kerusakan mtDNA

Degraded DNA adalah sebuah persoalan klasik, yang tidak jarang ditemui oleh seorang ahli forensik molekuler dalam menjalankan tugasnya menganalisis DNA, terutama pada kasus-kasus bencana massal, maupun pada kasus-kasus forensik lainnya, seperti pada kasus kejahatan yang disertai dengan upaya penghilangan barang bukti (yakni: dengan membakar korban agar korban tidak dapat dikenali) (Coble et al, 2005). Hal ini menjadi bukti bahwa *degraded DNA* adalah sebuah hal yang perlu diwaspadai oleh seorang ahli DNA forensik dalam upayanya membantu penegakan hukum, melalui identifikasi korban dengan analisis DNA.

Berbagai upaya dilakukan untuk mengantisipasinya seperti halnya yang dilakukan oleh Edson et al (2004) dan Gabriel et al (2005), yakni dengan menciptakan disain primer untuk *degraded mtDNA* dengan menggunakan strategi *overlapping* pada region nucleotide pada daerah *d-loop*. Demikian pula yang dilakukan oleh Butler et al(2000), yang berusaha menciptakan miniSTR primer dari *degraded DNA* yang diekstraksi dari *bloodstain* yang berusia 15 tahun. Namun hingga saat ini belum ada penelitian yang mengungkap pola kerusakan sequence DNA atau degradasi DNA akibat temperatur ekstrim yang sangat tinggi, di mana kondisi ini seringkali ditemukan pada kasus ledakan bom ataupun kasus kebakaran. Burger (1999) misalnya hanya meneliti atau melakukan studi DNA *microsatellite* pada *ancient skeletal remains*. Demikian pula dengan apa yang dilakukan oleh Chen L, Sun G, dan Wu M (2000), hanya terbatas pada penelitian tentang pengaruh berbagai faktor lingkungan terhadap kerusakan DNA (inti) pada pulpa gigi yang digunakan untuk identifikasi jenis kelamin, tanpa mengidentifikasi pola kerusakan DNA yang terjadi sebagai akibat berbagai faktor lingkungan. Padahal dengan mengetahui pola kerusakan atau degradasi DNA tersebut, upaya atau langkah antisipasi dalam pemeriksaan DNA forensik, seperti halnya membuat disain primer yang tepat, sehingga dapat digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mengalami degradasi, akan dapat terlaksana dengan baik.

Penelitian ini dilakukan sebagai kelanjutan penelitian sebelumnya, di mana pada penelitian pendahuluan ditemukan bahwa DNA mitokondria yang terdapat pada gigi yang terpapar panas pada temperatur ekstrim 350°C, 550°C, 750°C selama 10, 15, 20 menit, tidak menghasilkan pola pita yang sesuai dengan kontrol positif pada *amplicon product* 310 bp. Hal ini diduga karena DNA mitokondria telah mengalami kerusakan atau *fragmented DNA*. Untuk membuktikan adanya kerusakan pada DNA mitokondria tersebut, maka pada penelitian ini gigi yang diekstraksi DNA mitokondrianya tersebut, selain dibakar pada temperature ekstrim 350°C, 550°C, 750°C, juga dibakar pada temperature di bawah ketika temperature seperti pada temperature 100°C, 200°C, 300°C masing-masing selama 20 menit. Dari hasil perlakuan tersebut didapatkan bahwa DNA mtikondria pada gigi yang dibakar pada suhu 100°C, 200°C, 300°C selama 20 menit, masih dapat diketahui pola urutan nukleotidnya pada *amplicon product* 310 bp. Adapun pada gigi yang dibakar diatas temperature di atas suhu 100°C, 200°C, 300°C, pada penelitian ini tidak dapat diketahui urutan nucleotidnya pada amplicon product 310 bp. Sehingga tidak diketahui pola kerusakannya.