

RINGKASAN

ESTIMASI UMUR MELALUI METILASI DNA PADA BERCAK DARAH

Pendahuluan

Identifikasi dalam bidang kedokteran forensik adalah upaya untuk membantu penegak hukum dalam menentukan identitas seseorang. Identitas personal sering menjadi masalah dalam kasus pidana, kasus perdata, kematian tanpa identitas, dan bencana massal (Kumar et al. 2014). Data primer yang digunakan dalam identifikasi adalah sidik jari, catatan gigi, dan asam deoksiribonukleat atau deoxyribonucleic acid (DNA) (Schmeling et al. 2016).

Estimasi umur sangat penting dalam analisis forensik. Umur individu lebih sering diperkirakan dengan menggunakan tulang dan gigi. Akan tetapi, hal ini terbatas hanya pada kasus-kasus tertentu yang berhubungan dengan adanya kerangka manusia (Schmeling et al. 2016). Data catatan gigi juga sulit diperoleh karena rekam catatan gigi masih jarang dilakukan. Sehingga data primer yang masih sangat memungkinkan untuk diperiksa adalah DNA (Yi et al. 2014).

Metilasi DNA merupakan cara modifikasi epigenetik yang terbaik dalam memperkirakan umur pada sampel biologis pada manusia. Hal ini dikarenakan, DNA pada individu yang mengalami penuaan menyerupai perkembangan yang diatur dalam proses yang dikontrol ketat oleh modifikasi epigenetik khusus. Proses modifikasi epigenetik ini hanya ditemukan pada posisi 5 cincin pirimidin dari sitosin dalam urutan 5'-Cytosin-phosphate-Guanin-3' (CpG) dinukleotida. 5-Methylcytosine dari beberapa puncak CpG dalam DNA genomik dapat direplikasi selama pembelahan sel dengan pemeliharaan DNA methyltransferases (DNMT) tertentu sebagai mediasi pada DNA tersebut (Yi et al. 2014).

Pada kebanyakan kasus kriminal dengan tindak kekerasan, bercak darah dapat ditemukan pada tempat kejadian perkara (TKP). Bercak darah tersebut mungkin berasal dari korban, pelaku kejahatan, atau bahkan dari keduanya. Bercak darah dapat digunakan untuk membantu mengungkap peristiwa tersebut secara ilmiah (James and Eckert 1999).

Metode

Jenis penelitian ini adalah observasional laboratoris dengan jumlah sampel sebanyak 10 sampel dengan variasi umur yang berbeda di setiap jenis kelaminnya. Tahapan-

tahapan pada penelitian ini dimulai dari preparasi sampel bercak darah kemudian di isolasi dengan menggunakan DNAzol dan kloroform. Hasil isolasi kemudian di konversi bisulfit dan di PCR. Hasil PCR kemudian di sekuensing, sebelum disekuensing hasil PCR di elektroforesis agar diketahui panjang band yang akan disekuensing. Hasil sekuensing dianalisis dengan aplikasi online dan kemudian dihitung persen metilasinya. Hasil persen metilasi kemudian di uji korelasi dengan menggunakan program SPSS.

Hasil Penelitian

Ekstraksi dan isolasi DNA pada bercak darah diukur menggunakan UV spektrofotometer penyerapan cahaya pada kepadatan optik 260 nm dan 280 nm, didapatkan kadar DNA terendah adalah 577,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan kadar DNA tertinggi adalah 1683,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Rata-rata kadar DNA pada bercak darah adalah 1094,45 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Nilai kemurnian DNA paling rendah adalah 1,13 dan Nilai kemurnian terbesar adalah 1,22. Rata-rata nilai kemurnian DNA pada bercak darah adalah 1,18.

Setelah dilakukan konversi bisulfit, untuk melihat terdapat atau tidaknya DNA pada hasil metilasi dan PCR dilakukan visualisasi dengan menggunakan gel agarose 1%. Dari hasil visualisasi menggunakan elektroforesis gel agarosa didapatkan pita dari 10 sampel tersebut yang pada umumnya berkisar antara 150 bp dan 300 bp.

Dari hasil analisis data menggunakan IBM SPSS Statistics 24, pada subyek laki-laki didapatkan nilai r hitung (Pearson Correlation) adalah 0,888 dengan nilai signifikansi 2-tailed bernilai 0,04. Berdasarkan tabel R, didapatkan nilai R untuk N=5 dengan signifikansi 5% adalah 0,878, karena r hitung lebih dari r tabel dan nilai signifikansi kurang dari 0,05 maka terdapat korelasi signifikan antara persen metilasi dan umur pada subyek laki-laki.

Pada subyek perempuan didapatkan r hitung (Pearson Correlation) adalah 0,834 dengan nilai signifikansi 2-tailed bernilai 0,079, karena r hitung lebih dari r tabel namun nilai signifikansi lebih dari 0,05 maka terdapat korelasi tidak signifikan antara persen metilasi dan umur pada subyek perempuan.

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan kadar DNA terendah adalah 577,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan kadar DNA tertinggi adalah 1683,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Rata-rata kadar DNA pada bercak darah adalah 1094,45 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Kadar DNA optimal yang dibutuhkan untuk hasil optimal dalam konversi bisulfit

adalah 200-500 ng (Holmes et al. 2014). Sehingga hasil isolasi DNA dari bercak darah masih optimal untuk dilakukan konversi bisulfit.

Pada penelitian ini, persen metilasi subyek laki-laki cenderung meningkat selaras dengan kategorisasi usia namun persen metilasi justru menurun pada subyek lansia. Hal ini sangat mungkin dipengaruhi oleh faktor gaya hidup, lingkungan, dan penyakit yang diderita. Sedangkan pada subyek perempuan persen metilasi secara konsisten mengalami peningkatan sesuai dengan kategorisasi usia, meskipun laju peningkatan tersebut tidak secara konstan dapat diukur.

Antara laki-laki dan perempuan, situs CpG memiliki tingkat metilasi DNA yang berbeda secara signifikan. Situs CpG ini ditempatkan pada kromosom autosomal dengan perbedaan absolut dalam metilasi karena situs CpG terelokasi pada kromosom X sehingga perbedaan metilasi spesifik jenis kelamin pada kromosom X cenderung lebih tidak stabil. Kerentanan perempuan terhadap stress dan penyakit tertentu juga sangat mempengaruhi laju metilasi DNA, sehingga faktor-faktor yang mempengaruhi termetilasinya DNA sangat bervariasi pada masing-masing individu (Davegårdh et al. 2019).

Penyakit-penyakit degeneratif dan sindroma metabolik yang dimiliki oleh masing-masing individu juga sangat mempengaruhi hasil persen DNA yang termetilasi. Proses perjalanan penyakit degeneratif menargetkan elemen-elemen mesin epigenetik seluler, mengubah ekspresi dan aktivitas mesin epigenetik sehingga akan mempengaruhi perubahan keadaan epigenetik tiap individu (Neidhart 2016).

Regulator epigenom yang sering diabaikan adalah neuroendokrin, padahal DNA metilasi dapat menjadi proses yang dinamis, dimana keadaan hormonal individu sangat mempengaruhi peran hidrosimetilasi sitosin. Penggunaan obat-obatan tertentu yang bersifat oksidatif maupun antioksidan juga akan memberikan efek terhadap laju modifikasi histon. Ini dapat terjadi, misalnya, melalui mutasi sitosin dalam kasus mereka dimetilasi dalam sel normal. Tidak adanya sitosin teretilasi dapat menyebabkan modifikasi histone permisif dan memungkinkan gen untuk diekspresikan. Jenis mekanisme ini dapat mengubah fenotip dan perilaku sel (Neidhart 2016).

Penyakit-penyakit neoplastik, degeneratif, metabolik, bahkan inflamasi akan menyebabkan stress oksidatif yang akan mempengaruhi aktivasi dan inaktivasi gen tertentu, serta ketidakstabilan genom, yang terjadi dengan mekanisme epigenetik juga.

Tidak seperti mutasi genetik, epimutasi tidak mengubah urutan dasar DNA dan berpotensi reversibel (Neidhart 2016).

Kesimpulan

Terdapat korelasi signifikan antara persen metilasi dengan umur pada subyek laki-laki, sedangkan pada subyek perempuan terdapat korelasi yang tidak signifikan.

ABSTRAK

Identifikasi dalam bidang kedokteran forensik adalah upaya untuk membantu penegak hukum dalam menentukan identitas seseorang. Identitas personal sering menjadi masalah dalam kasus pidana, kasus perdata, kematian tanpa identitas, dan bencana massal. Estimasi umur sangat penting dalam identifikasi forensik. Metilasi DNA merupakan suatu modifikasi epigenetik yang potensial untuk memperkirakan umur. Hal ini dikarenakan, DNA pada individu yang mengalami penuaan menyerupai perkembangan yang diatur dalam proses yang dikontrol ketat oleh modifikasi epigenetik khusus. Pada kebanyakan kasus kriminal dengan tindak kekerasan, bercak darah dapat ditemukan pada tempat kejadian perkara. Bercak darah tersebut mungkin berasal dari korban, pelaku kejahatan, atau bahkan dari keduanya. Bercak darah dapat digunakan untuk membantu mengungkap peristiwa tersebut secara ilmiah. Sejauh ini korelasi metilasi DNA dari bercak darah dengan umur seseorang belum banyak diketahui. Penelitian bertujuan mengetahui korelasi metilasi DNA dari bercak darah dengan umur seseorang. Penelitian dilakukan di Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga periode Juli sampai Oktober 2019. Metode penelitian yang digunakan observasional analitik yang dilakukan pada 10 sampel dengan rincian 5 sampel pria dan 5 sampel wanita. Hasil penelitian, korelasi metilasi DNA dengan umur pada subyek laki-laki didapatkan nilai r adalah 0,888 dengan nilai signifikansi 0,04 dan pada subyek perempuan didapatkan r adalah 0,834 dengan nilai signifikansi 0,079. Simpulan ditemukan korelasi signifikan antara persen metilasi dengan umur pada subyek laki-laki, sedangkan pada subyek perempuan terdapat korelasi yang tidak signifikan.

Kata kunci: Bercak Darah, Forensik, Metilasi DNA, Perkiraan, Umur

ABSTRACT

Forensic identification is an effort to help law enforcement in determining a person's identity. Personal identity is often a problem in criminal cases, civil cases, death without identity, and mass disasters. Age estimation is very important in forensic identification. DNA methylation is a potential epigenetic modification for age estimation because DNA in aging process resembles developments that are regulated in processes that are tightly controlled by specific epigenetic modifications. In most cases of violent crime, bloodstains can be found at the crime scene. Bloodstain may come from victims, perpetrators of crime, or even from both. Bloodstain can be used to help reveal the fact scientifically Correlation between DNA methylation from bloodstain and a person's age is unknown. The study aims to determine the correlation of DNA methylation from bloodstain and a person's age. The study was conducted at the Institute of Tropical Disease of Universitas Airlangga from July to October 2019. The research method used was analytic observational which was conducted on 10 samples with details of 5 male and 5 female samples. The results of the study, correlation of DNA methylation with age in male subjects correlation coefficient was 0.888 with a significance value of 0.04 and in female subjects correlation coefficient was 0.834 with a significance value of 0.079. The conclusion, there is a significant correlation between percent methylation with age in male subjects, whereas in female subjects there was no significant correlation.

Key words: Age, Bloodstain, DNA Methylation, Estimation, Forensic