

# KUALITAS DNA HASIL ISOLASI DARI BEBERAPA BAGIAN BATANG RAMBUT UNTUK BAHAN ANALISIS DNA FORENSIK

Yuni Ahda, Ilva Rozi Muharni, Dwi Hilda Putri

Staf Pengajar Kimia di Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang

## ABSTRACT

*Hair and blood spots are two examples of forensic evidence that may be found at the crime scene. For DNA fingerprint analysis, those samples can be used as sources of DNA. Part of hair that most often used in DNA fingerprint analysis is root of hair because they contain much DNA. But in fact, samples found in the field are not always intact, such as hair without a root. Therefore, DNA isolation should be done from the hair shaft. The same thing happens to blood cells, in which fresh blood is a best source of DNA for isolation. However, the reality on the scene, which is often found dried blood spots that should be sought as much as possible to get DNA from the samples available. The purpose of this study is to find the procedure of DNA isolation of the hair shaft and dried blood spots on the fabric and to determine the quality of DNA isolation. The study was a descriptive study with the working stages are the isolation of DNA from the hair shaft and dried blood spots on the fabric by modifying the procedure of DNA isolation from sources of fresh cells, DNA amplification using the primers Gaeno and STR D7S820, and electrophoresis of PCR product to analyse the quality of DNA amplification. The results showed that DNA could only be isolated from the hair shaft close to the roots. This is evidenced by the formation of PCR products amplified using primers Gaeno and STR D7S820. DNA isolation that is performed in the middle and the end of the hair shaft does not get the DNA, as evidenced by the unsuccessful amplification using template DNA derived from both parts of the hair. DNA isolation is also successfully carried out from dried blood spots with a volume of 300 ml, 400 ml and 500 ml. DNA amplification using the primers Gaeno gave positive results using template DNA from dried blood of the three kind volume, but the amplification of STR using D7S820 primers produce only positive on the source of DNA isolated from 500 ml of dried blood spots.*

**Keyword:** *Hair, blood spots, DNA isolation*

---

## PENDAHULUAN

*Deoxyribonucleic acid* (DNA) merupakan bagian dari sel yang dapat dipakai sebagai alat identifikasi suatu organisme termasuk manusia. Penggunaan DNA sebagai alat identifikasi dikarenakan keidentikannya pada setiap sel pada satu organisme atau dapat ditelusuri kesamaannya pada beberapa generasi yang mempunyai hubungan kekerabatan. Karena keidentikan dari DNA pada setiap sel pada satu organisme, maka bagian sel manapun dari tubuh dapat dipakai sebagai sampel (Atmadja, 1996; Hays, 2008). Sebagai alat

identifikasi, DNA tidak dapat berubah sepanjang hidup seseorang seperti halnya alat identifikasi konvensional (sidik jari) yang dapat berubah karena luka atau operasi (Betsch, 1994 dalam Jennifer *et al.*, 2007). Bagian DNA yang dilacak adalah daerah yang kaya dengan pengulangan nukleotida-nukleotida tertentu yang dikenal dengan DNA *fingerprint*.

Analisis DNA fingerprint pada prinsipnya mengambil DNA dari sampel sel hidup dari bagian tubuh yang paling tidak memberikan rasa sakit pada individu yang diambil dan dapat menyediakan DNA genom dalam jumlah yang cukup untuk

kegiatan analisis. Namun, kondisi ideal tersebut terkadang tidak bisa terpenuhi dalam segala situasi, sehingga perlu diupayakan mendapatkan sampel DNA dari sumber sel yang cukup sulit. Salah satu contoh adalah dalam kasus pemerkosaan atau pembunuhan dimana bukti di tempat kejadian perkara hanyalah helaian rambut yang tidak utuh. Helaian rambut hanyalah disusun oleh sel-sel mati yang semakin ke ujung semakin tua umur sel matinya. Sel mati sebetulnya masih mengandung DNA, namun kondisinya tidak sebagus sel hidup sehingga untuk mengisolasi DNA dari sel mati diperlukan teknik khusus yang dimodifikasi dari prosedur standar isolasi DNA sel hidup.

Keberhasilan isolasi DNA sangat ditentukan oleh kuantitas dan kualitas sel yang diisolasi. Semakin banyak jumlah sel sumber DNA dan semakin baik kualitas sel tersebut dalam arti tidak terkontaminasi dengan sel dari organisme lain atau bahan-bahan pengganggu lainnya, maka semakin banyak jumlah dan bagus kualitas DNA yang didapatkan. Isolasi DNA dari batang rambut telah berhasil dilakukan oleh Chang, *et al.* (2002). Penelitian yang dilakukan Chang *et al.* (2002) memperlihatkan konsentrasi DNA hasil isolasi dari pangkal batang rambut berkisar dari 0.02-20 ng per 20 mg rambut. Namun Chang *et al.* (2002) hanya mendapatkan DNA dari pangkal batang rambut dan belum berhasil mendapatkan DNA dari rambut bagian tengah dan ujung rambut. Penelitian ini bertujuan mendapatkan prosedur isolasi DNA dari beberapa bagian rambut (pangkal, bagian tengah dan bagian ujung rambut) dan menentukan kualitas DNA dari hasil isolasi tersebut.

## METODE PENELITIAN

### 1. Isolasi DNA dari Batang Rambut

Tiga buah eppendorf masing-masing diisi dengan 100  $\mu$ L larutan isolasi DNA (50 mM Tris, 1 mM EDTA, 0,5% Tween-20, Proteinase K) (konsentrasi 200  $\mu$ g/mL).

Dua inkubator dipanaskan masing-masing suhu 37°C dan suhu 95°C. Lima helai rambut diambil dengan memotong batang rambut pada bagian yang dekat ke akar rambut menggunakan pisau steril. Batang rambut bagian pangkal, tengah dan ujung (masing-masing 5 cm) dipotong lebih kurang 1,5 cm – 1,5 cm, lalu dimasukkan ke dalam tiga tabung eppendorf yang telah berisi larutan untuk isolasi DNA. Tabung eppendorf tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator suhu 37°C selama 42 jam. Setelah itu tabung eppendorf dimasukkan kembali ke dalam inkubator suhu 95°C selama 10 menit. Kemudian tabung eppendorf dan isinya disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 1 menit. Ambil supernatannya, masukkan ke eppendorf baru. Terakhir, tabung eppendorf disimpan dalam kulkas dengan suhu -4°C.

### 2. Penentuan Kualitas DNA Hasil Isolasi Berdasarkan Kemampuan DNA Sebagai Cetakan Dalam PCR

#### a. PCR dengan primer GAENO

Masukkan campuran PCR ke dalam PCR *tube*, yaitu 36,85  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O + 5  $\mu$ l buffer 10x + 3  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> + 2  $\mu$ l dNTP + 0,75  $\mu$ l taq polimerase + 4  $\mu$ l primer *forward* 5'-ATGTTGGTCAGGCTGACTATG-3' + 4  $\mu$ l primer *reverse* 5'-GATTCCA CATTATCCTCATTGAC-3' + DNA hasil isolasi ke dalam PCR *tube* sebanyak 10  $\mu$ l (Fermentas, 2008). PCR *tube* yang telah berisi campuran PCR dimasukkan ke dalam mesin PCR. Setelah itu, dilakukan pengaturan temperatur pada mesin PCR dengan temperatur siklus yang digunakan adalah 94°C selama 1 menit (denaturasi), *annealing* pada suhu 66°C selama 1 menit, *elongasi* pada suhu 72°C selama 1 menit dengan jumlah siklus 40 dan dilengkapi dengan 10 menit pada suhu 94°C (denaturasi awal) 1x di awal siklus, dan 1x pada 72°C selama 10 menit diakhir siklus.

#### b. PCR dengan primer D7S820

Masukkan campuran PCR ke dalam PCR *tube*, yaitu 36,85  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O + 5  $\mu$ l buffer 10x + 3  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> + 2  $\mu$ l dNTP +

0,75 µl taq polimerase + 4 µl primer *forward* 5'-CATGAGGCTCAGCCCCAGA AC-3' + 4 µl primer *reverse* 5'-AGTCAA TCCCTTTGGTGTTTAC -3' + DNA hasil isolasi ke dalam PCR *tube* sebanyak 10 µl. PCR *tube* yang telah berisi campuran PCR dimasukkan ke dalam mesin PCR. Setelah itu, dilakukan pengaturan temperatur pada mesin PCR dengan temperatur siklus yang digunakan adalah 94°C selama 1 menit (denaturasi), *annealing* pada suhu 62°C selama 1 menit, *elongasi* pada suhu 72°C selama 1 menit dengan jumlah siklus 40 dan dilengkapi dengan 10 menit pada suhu 94°C (denaturasi awal) 1x di awal siklus, dan 1x pada 72°C selama 10 menit diakhir siklus.

### c. Elektrofesis Gel Agarose

Gel agarose dibuat dengan melarutkan agarose sebanyak 1,5 gram ke dalam 100 ml TAE 1X. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *hot plate magnetic stirrer*. Setelah homogen, larutan didiamkan pada suhu ruangan. Jika suhu gel agarose sudah mencapai ± 60°C, tambahkan 1 µl etidium bromida (EtBr) ke dalam agar. Agar dituang ke dalam cetakan yang sebelumnya sudah dibatasi dan telah diletakkan sisir. Tunggu sampai keras. Setelah agar keras, pembatas dibuka dan sisir diangkat. Agar dan cetakan diletakkan dalam elektrofesis *chamber*. Lalu masukkan TAE 1X kira-kira 300 ml (sampai menutup gel agarose). Campuran DNA dan *loading dye* dengan komposisi 5:1 (DNA: *loading dye*) dimasukkan ke dalam sumur gel agarose. Lalu *chamber* ditutup dan diberi arus listrik 90 volt selama 1 jam. Gel hasil elektrofesis diamati pada UV *Transluminator* dan difoto (Asrizal, 2006).

### 3. Teknik Analisis Data

Data kualitas DNA hasil isolasi dianalisis secara deskriptif dengan melihat kemampuan DNA sebagai cetakan pada proses amplifikasi dengan menggunakan primer GAENO untuk daerah gen dan primer D7S820 untuk daerah STR D7S820.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Optimasi Isolasi DNA dari Batang Rambut

Optimasi isolasi DNA dari batang rambut perlu dilakukan untuk menemukan cara isolasi yang tepat agar menghasilkan DNA dengan kualitas yang diharapkan. Optimasi dilakukan berdasarkan cara isolasi DNA dari akar rambut. Dalam penelitian ini, isolasi DNA dari batang rambut mengacu pada cara isolasi DNA yang telah dilakukan oleh Kotsimbos *et al.* (1994) dalam Fatchiyah dkk. (2008) dan Asrizal (2006) yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Isolasi DNA merupakan proses pengeluaran DNA dari tempatnya berada (Fatchiyah dkk, 2008). Untuk mengeluarkan DNA, diperlukan proses pelisisan membran sel. Pada proses isolasi DNA dari batang rambut digunakan beberapa zat, seperti EDTA, Tween-20 dan proteinase K sebagai perusak membran sel. EDTA berperan dalam menghilangkan ion  $Mg^{2+}$  yang penting untuk mempertahankan struktur sel (Brown, 1991). Penambahan Tween-20 dalam larutan isolasi DNA akan membantu menghilangkan lipid yang membangun membran sel. Untuk memecah protein yang membangun membran sel, dibutuhkan enzim Proteinase K yang akan bekerja optimal pada suhu inkubasi 37°C – 56°C. Suhu yang terlalu rendah atau terlalu tinggi akan menyebabkan menurunnya aktivitas proteinase K (Promega, 2010).

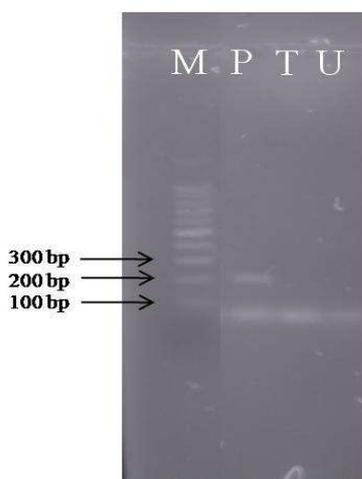
Pada penelitian ini, suhu inkubasi yang digunakan adalah 37°C. Untuk langkah awal, inkubasi pada suhu 37°C dilakukan selama 1 malam (Kotsimbos *et al.*, 1994 dalam Fatchiyah, 2008). Hasil isolasi menunjukkan konsentrasi DNA yang relatif kecil karena pita yang terbentuk pada visualisasi hasil elektrofesisnya sangat tipis. Oleh karena itu, dilakukan penambahan waktu inkubasi untuk mendapatkan hasil yang optimal. Waktu inkubasi yang lebih lama pada suhu 37°C – 56°C kadang dibutuhkan untuk optimalisasi kerja proteinase K (Promega, 2010). Dari beberapa waktu

inkubasi yang telah dilakukan, didapatkan hasil yang paling baik pada waktu inkubasi 42 jam.

## 2. Konfirmasi DNA Hasil Isolasi dengan PCR

Keberhasilan proses isolasi DNA dapat dilihat dari kemampuan DNA hasil isolasi untuk dapat digunakan sebagai cetakan pada proses amplifikasi (Sambrook dan David, 2001). Oleh karena itu, dilakukan amplifikasi DNA hasil isolasi dari batang rambut dengan menggunakan

primer GAENO. Primer GAENO berperan dalam mendeteksi mutasi pada gen yang bertanggung untuk hipertensi. Namun, pada penelitian ini, primer GAENO hanya digunakan untuk proses amplifikasi untuk melihat kemampuan DNA hasil isolasi sebagai cetakan pada PCR. Produk PCR harus dielektroforesis untuk memisahkan DNA berdasarkan berat molekulnya dengan bantuan arus listrik (Campbell, Jane dan Lawrence, 2002). Hasil elektroforesisnya dapat dilihat pada Gambar 3.



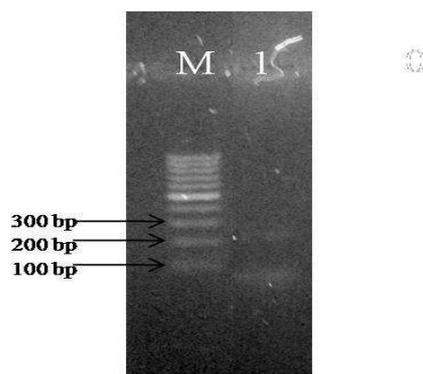
Gambar 3. Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR dengan Primer GAENO (M: Marker 100 bp, P: DNA cetakan hasil isolasi bagian pangkal, T: DNA cetakan hasil isolasi bagian tengah, U: DNA cetakan hasil isolasi bagian ujung)

Gambar 3 menunjukkan keberhasilan proses isolasi pada bagian batang rambut yang dekat ke akar dan keberhasilan proses amplifikasinya. Hal ini dibuktikan dengan terlihatnya pita DNA yang berada diantara pita marker 200 bp dan 300 bp. Hal ini sesuai dengan yang diharapkan bahwa primer akan mengamplifikasi DNA dan menghasilkan pita dengan panjang tertentu. Gambar 3 menunjukkan bahwa DNA hasil isolasi dari batang rambut memiliki kualitas yang relatif bagus karena dapat digunakan sebagai cetakan pada proses amplifikasi.

## 3. Deteksi STR Menggunakan Primer D7S820

Untuk menguji kemampuan DNA sebagai cetakan dalam teknik DNA Forensik, maka dilakukan proses

amplifikasi STR dengan menggunakan DNA hasil isolasi dari rambut. Pada proses amplifikasi STR, primer yang digunakan adalah primer D7S820 yang berperan untuk mengenali daerah STR D7S820 (National Institute of Standards and Technology, 2007). Untuk tahap pertama, dilakukan amplifikasi pada DNA hasil isolasi dari akar rambut. Produk PCR kemudian dielektroforesis untuk digunakan sebagai kontrol positif bagi proses amplifikasi berikutnya. Langkah ini juga berperan dalam proses optimasi primer. Namun dalam penelitian ini, optimasi primer yang dilakukan hanya sampai primer D7S820 dapat berkerja dalam proses amplifikasi dan menghasilkan produk yang spesifik. Hasil elektroforesis produk PCRnya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR dengan Primer D7S820 menggunakan DNA cetakan hasil isolasi dari akar rambut (M: marker 100 bp, 1: produk PCR)

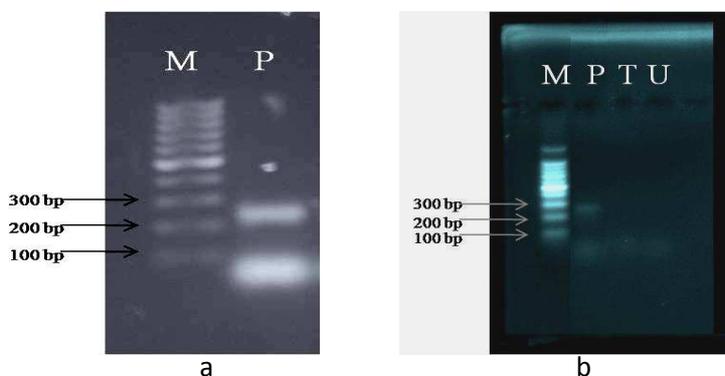
Dari visualisasi hasil elektroforesis pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa primer D7S820 telah bekerja. Kerja dari primer dapat dilihat dengan dihasilkannya DNA dengan pita yang terdapat diantara marker 200 bp dan 300 bp dari pita-pita marker 100 bp DNA Ladder. Pita DNA pada Gambar 3 diyakini sebagai pita STR D7S820 karena daerah ini memiliki unit pengulangan 4 basa dengan jumlah pengulangan 16-44. Jika dilihat dari posisi pita yang dihasilkan, diperkirakan daerah STR pada DNA hasil isolasi memiliki jumlah pengulangan 39-44 kali.

Pada Gambar 4 juga terdapat sebuah pita yang berada di bawah pita 100 bp. Pita ini diyakini sebagai dimer karena dimer juga terdapat pada sumur lainnya. Dimer merupakan keadaan dimana kedua primer yang digunakan pada proses amplifikasi membentuk ikatan sehingga dihasilkan

DNA dengan pita yang pendek setelah elektroforesis. Hal ini juga menandakan kurangnya konsentrasi DNA cetakan pada reaksi PCR (Yuwono, 2006).

Berdasarkan hasil pada Gambar 4, dapat dikatakan bahwa individu pemilik DNA untuk isolasi memiliki daerah STR yang homozigot pada kromosom no 7 nya. Artinya, kedua kromosom no 7 pada individu tersebut memiliki daerah STR D7S820 dengan panjang basa yang sama. Hal ini dapat diketahui dari terbentuknya pita tunggal setelah elektroforesis.

Langkah berikutnya adalah deteksi daerah STR pada DNA hasil isolasi dari batang rambut dengan primer D7S820. Proses amplifikasi dilakukan dengan menggunakan DNA cetakan yang merupakan hasil isolasi dari bagian pangkal, tengah dan ujung batang rambut. Hasil elektroforesisnya dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR dengan Primer D7S820 Menggunakan DNA Cetakan Hasil Isolasi dari Batang Rambut (a: produk PCR dengan DNA cetakan dari pangkal batang rambut, b: produk PCR

dengan DNA cetakan dari tiga bagian batang rambut (pangkal (P), tengah(T) dan ujung(U))

Dari hasil elektroforesis pada Gambar 5, dapat dilihat adanya pita DNA antara marker 200 bp dan 300 bp sama seperti yang terlihat pada Gambar 4. Gambar 5a menunjukkan kualitas DNA hasil isolasi dari batang rambut hampir sama dengan isolasi DNA dari akar rambut. Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 5b menandakan hasil yang konsisten terhadap hasil isolasi DNA dari batang rambut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bagian batang rambut yang memiliki DNA dengan kualitas paling baik untuk dijadikan bahan analisis DNA forensik adalah batang rambut yang paling dekat dengan akar (Gambar 3 dan Gambar 5b). Pada penelitian ini juga ditemukan bahwa bagian lain dari batang rambut (tengah dan ujung) tidak dapat digunakan sebagai bahan isolasi DNA untuk bahan analisis DNA forensik.

Batang rambut tidak mengalami aktivitas biokimia atau dengan kata lain selnya telah mati. Saat tumbuh ke luar kulit, sel-sel rambut berhenti menyerap nutrisi dan mulai menghasilkan keratin. Proses ini dinamai keratinisasi. Saat keratinisasi, sel-sel rambut pun mati. Bersama keratin, sel-sel mati itu kemudian membentuk batang rambut (Anonimous, 2010). Kemungkinan faktor inilah yang menyebabkan mengapa sulitnya mengisolasi DNA pada bagian tengah dan ujung batang rambut. Logikanya, semakin ke ujung, usia selnya semakin tua dan lapisan keratinnya makin tebal.

## KESIMPULAN

1. Telah ditemukan prosedur isolasi DNA genom dari batang rambut dengan modifikasi cara kerja Kotsimbos *et al.* (1994) dan Kotsimbos *et al.* (1994) dengan menambah waktu inkubasi pada suhu 37°C menjadi 42 jam.
2. DNA hasil isolasi dari pangkal batang rambut memiliki kualitas yang paling baik dibandingkan bagian tengah dan

ujung batang rambut karena dapat digunakan sebagai cetakan pada proses amplifikasi daerah STR D7S820.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. (2010). **“Hair”**. <http://wikipedia.org/hair.htm>. Diunduh tanggal 20 sJuli 2010.
- Asrizal, A. (2006). **“Kualitas dan Kuantitas DNA Hasil Isolasi dari Beberapa Jaringan Yang Berbeda Untuk Bahan Dasar Analisis DNA Finger print”**. *Tugas Akhir tidak diterbitkan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam – Universitas Negeri Padang.
- Atmadja, D. S. (1996). **“Ilmu Kedokteran Forensik Molekuler dan Perkembangannya di Indonesia”**. *Presentasi Syukuran Dicapainya Gelar PhD dari Kobe University School of Medicine*. Jakarta.
- Chang, H. W. *et al.* (2002). **“Genotype Analysis Using Human Hair Shaft”**. *Cancer Epidemiology, Biomarkers dan Prevention* (Vol. 11).
- Fatchiyah, dkk. (2008). **Analisa Biologi Molekuler**. Malang: Universitas Brawijaya.
- Hays, Dustin. (2008). **DNA, Forensics, and the Law**. Washington DC: Genetics and Public Policy Center.
- Jennifer, *et al.* (2007). **“DNA Finger printing”**. *An Interactive Qualifying Project Report*. Faculty of Worcester Polytechnic Institute.
- Lutfig, M. A. *et al.* (2001). **“DNA and Forensic Science”**. *New England Law Review* (Vol. 35).
- Promega. 2010. **“Proteinase K”**. [http://promega.com/proteinase K/pdf](http://promega.com/proteinase%20K/pdf). Diunduh tanggal 20 Juli 2010.
- Riany, H. (2008). **“Isolasi DNA Genom dan Amplifikasi Gen rpoB Mycobacterium tuberculosis Dari Sputum Pasien Positif Pewarnaan Basil Ta**

**han Asam (BTA)". Tugas Akhir tidak diterbitkan.** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam-Universitas Negeri Padang.

Yuwono, T. (2006). **Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction.** Yogyakarta: Andi.