

**TEKNIK TES DNA KASUS PATERNITAS DARI POLDA METRO JAYA
DI LABORATORIUM DNA PUSDOKKES POLRI
(DNA TESTING METHODS IN PATERNITY CASE FROM POLDA
METRO JAYA IN DNA LABORATORY, PUSDOKKES POLRI)**

**Elsa Virnarenata¹, Elly Lestari Rustiati¹, Putut Tjahjo
Widodo², Ifan Wahyudi² Priyambodo¹**

*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam, Universitas Lampung¹*

Laboratorium DNA, Pusat Kedokteran dan Kesehatan Polri²

vrenatae@gmail.com

ABSTRAK

Analisis forensik terus dikembangkan seiring dengan kemajuan sains dan teknologi. Aplikasinya meluas, meliputi segala lini dan kasus untuk membantu pembuktian dalam penyelidikan kasus hukum. Salah satu di antara kasus yang memerlukan bukti forensik adalah keraguan terhadap status keayahan sebab diperlukan adanya upaya eksklusi terhadap seseorang yang diduga sebagai orang tua biologis dari seorang anak. Kasus ragu ayah dapat terselesaikan dengan tes paternitas dalam membuktikan apakah seorang pria adalah ayah biologis dari seorang anak dengan membandingkan pola DNA anak dengan terduga ayah untuk memeriksa bukti pewarisan DNA yang dapat menunjukkan kepastian adanya hubungan biologis. Proses pembuktian orang tua biologis melalui tes DNA berkekuatan hukum sebab dilakukan oleh tenaga ahli dan berkepastian hukum karena hasil tes DNA akan dinyatakan tidak terbantahkan secara ilmiah serta tidak akan pernah berubah. Pada tes DNA kasus paternitas dari Polda Metro Jaya di Laboratorium DNA PUSDOKKES Polri dilakukan tujuh tahapan, dimulai dari eksaminasi I, eksaminasi II, ekstraksi, kuantifikasi, amplifikasi, elektroforesis kapiler dan analisis data pada hasil pengambilan sampel buccal swab dari anak, ibu dan terduga ayah.

Kata kunci : tes DNA, paternitas, ayah biologis, elektroforesis kapiler

PENDAHULUAN

Dewasa ini aplikasi ilmu forensik tidak saja dipergunakan pada penyelesaian kasus dengan korban yang telah meninggal tetapi juga kasus-kasus yang melibatkan orang yang masih hidup. Analisa forensik dilaksanakan terhadap bukti-bukti untuk membantu peradilan

menemukan fakta-fakta fisik sehingga kasus-kasus kriminal maupun sipil dapat diselesaikan. Salah satu kasus di bidang hukum yang memerlukan penjelasan forensik adalah kasus perdebatan status keayahan. Tes paternitas adalah usaha untuk mengeksklusi seseorang yang dituduh sebagai orang tua biologis dari seorang anak.

Setiap sel dalam tubuh manusia memiliki 24 pasang kromosom. Pada induk sel sperma dan sel telur terjadi pembelahan yang disebut meiosis sehingga 24 pasang kromosom tersebut berpisah sehingga sel-sel induk menghasilkan sel sperma atau sel ovum yang memiliki 24 kromosom. Pada saat pembuahan sel sperma ayah (24 kromosom) akan bersatu dengan sel ovum ibu (24 kromosom) sehingga kromosom dari pihak ayah akan berpasang-pasangan dengan kromosom dari pihak ibu dan membentuk zigot. Pada saat inilah rangkaian *deoxyribo nucleic acid* (DNA) dari ayah dan ibu diturunkan kepada anaknya, dimana masing-masing pihak memberikan kontribusi 50 persen terhadap DNA anak (Roberts dan Pembrey, 1995).

Terdapat berbagai jenis metode tes paternitas yaitu metode konvensional dengan analisis fenotip pada berbagai sistem golongan darah dan metode forensik molekular yaitu dengan tes DNA. Analisis fenotip hanya dapat memberikan jawaban pasti jika si X bukan ayah si anak, sedangkan tes DNA didasarkan pada analisis informasi genetik yang sangat spesifik dalam membedakan ciri setiap individu sehingga dapat menentukan identitas seseorang hampir 100% pasti sebagai ayah biologis si anak (Plueckhahn dan Cordner, 1991).

Penentuan status keayahan tidak hanya menyangkut masalah psikologi namun juga penting dalam aspek hukum dan aspek medis. Dalam aspek hukum masalah ini berhubungan dengan pembuatan akta kelahiran, hak waris dan pernikahan. Diketahuinya ayah biologis juga

berguna dari aspek medis dalam hal pendonoran darah atau transplantasi organ. Penentuan status keayahan terhadap seorang anak dapat dilakukan dengan metode paling sederhana yaitu dengan menentukan atau mencocokkan tingkat kesuburan atau fertilitas seorang pria yang dituduh sebagai ayah dan waktu terjadinya konsepsi.

Selain itu kasus-kasus *disputed paternity* juga dapat diselesaikan dengan melakukan tes paternitas, yaitu suatu tes untuk menentukan apakah seorang pria adalah ayah biologis dari seorang anak. Adapun kasus paternitas dalam kaitannya dengan penelusuran hubungan kekerabatan antara seorang anak dengan laki-laki yang diduga sebagai ayah biologisnya, saat ini merupakan salah satu permasalahan yang umum terjadi. Tes paternitas membandingkan pola DNA anak dengan terduga ayah untuk memeriksa bukti pewarisan DNA yang menunjukkan kepastian adanya hubungan biologis. Proses pembuktian seorang anak terhadap ayah biologisnya melalui tes DNA memiliki kekuatan hukum karena dilakukan oleh para ahli dan mencerminkan kepastian hukum karena sampel yang diperoleh melalui tes DNA akan dinyatakan tidak terbantahkan secara ilmiah serta tidak akan pernah berubah.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium DNA, Pusdokkes Polri, Jakarta Timur, DKI Jakarta, pada tanggal 18 Januari – 28 Februari 2018.

Prosedur Penelitian

a) Tahap Eksaminasi I

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur pemeriksaan dan pengambilan sampel *evidence* atau target. Urutan *evidence* yaitu sampel target terduga ayah dengan nomor (1) dan sampel ibu biologis dengan nomor (2). Langkah berikutnya yaitu *tip* dari *buccal swab stick* (1) yang pertama dan kedua dipindahkan ke dalam *tube* 2ml yang telah dipersiapkan dan diberi nomor sampel, lalu *tube* ditutup rapat. Sarung tangan diganti, lalu tangan kembali disemprot menggunakan *bleach* 10%, kemudian etanol 70%. Ulangi untuk *tip* dari *buccal swab stick* (2) yang pertama dan kedua.

b) Tahap Eksaminasi II

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur pemeriksaan dan pengambilan sampel *reference* atau pembanding. Langkah berikutnya yaitu *tip* dari *buccal swab stick* (3) yang pertama dan kedua dipindahkan ke dalam *tube* 2 ml yang telah dipersiapkan dan diberi nomor sampel, lalu *tube* ditutup rapat.

c) Tahap Ekstraksi

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur ekstraksi serta pemurnian DNA sampel yang telah diambil, baik *evidence* maupun *reference*. *Tube* kontrol diisi 5 µl Proteinase K dan 200 µl *Chelex* 5%. Selanjutnya 200 µl *Chelex* 5% ditambahkan pada setiap *tube* yang berisi *tip* dari *buccal swab stick*. *Chelex*

mengikat ion logam dan berfungsi untuk menghilangkan inhibitor DNA.

Kemudian 5 µl Proteinase K 10 mg/ µl ditambahkan pada setiap *tube*, dilanjutkan dengan tahap *vortex* dengan kecepatan rendah. Penambahan Proteinase K berfungsi sebagai pengurai struktur membran sel. Sampel ditempatkan pada *thermomixer* dengan suhu 56°C selama satu jam. Sampel kembali di-*vortex* selama beberapa detik dan dipindahkan ke *heating block* 100°C selama delapan menit, lalu di-*vortex* kembali. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama tiga menit. Supernatan dipindahkan ke *tube* 1,5 ml baru dan disimpan dalam suhu 4°C.

d) Tahap Kuantifikasi

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur penghitungan jumlah DNA dalam sampel yang telah diambil, baik *evidence* maupun *reference*. Setelah preparasi aseptis selesai dilakukan, terlebih dahulu *Quantifiler Standard* dan *Quantifiler Master Mix* dipersiapkan. Kemudian, *Human Primer Mix* sebanyak 10 µl dicampurkan dengan *PCR Reaction Mix* sebanyak 12,5 µl ke dalam *tube* steril. *Quantifiler Mix* sebanyak 23 µl dimasukkan ke dalam setiap *tube*. *Tube* kemudian di-*vortex* selama 10 detik untuk memastikan seluruh reagen sudah tercampur rata. Sampel DNA yang akan diidentifikasi kemudian dimasukkan ke dalam *tube* sebanyak 2 µl kemudian ditambahkan 2 µl *Buffer TE*. *Tube*

berisi sampel dan reagen disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama satu menit untuk menghilangkan gelembung yang ada pada *tube*. Sampel DNA kemudian diproses dengan mesin 7500 *Real-Time PCR System*.

e) Tahap Amplifikasi

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur perbanyak jumlah DNA dalam sampel yang telah diambil, baik *evidence* maupun *reference*. Tahap pertama yang harus dilakukan yaitu proses preparasi amplifikasi dengan *Amplification Kit. Master Mix* dan *Primer Set* yang akan digunakan di-*vortex* selama 3 detik. *Master mix* sebanyak 7,5 µl dan *Primer set* sebanyak 2,5 µl dimasukkan ke dalam *tube*.

Campuran di-*vortex* selama 3 detik, kemudian disentrifugasi selama beberapa detik. Sebanyak 10 µl campuran dipindahkan ke dalam setiap *tube*.

Tahap selanjutnya yang harus dilakukan yaitu mempersiapkan sampel kontrol negatif berisi 15 µl *low-TE buffer*, sampel target tes yaitu 15 µl DNA dan kontrol positif berisi 10 µl *control DNA* (0.1 ng/ µl) 5 µl *low-TE buffer* kemudian ditambahkan ke dalam *tube* yang dikehendaki (volume akhir 25 µl). *Tube* disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 detik. Proses amplifikasi dilakukan dengan menggunakan *PCR System 9700*. PCR memanfaatkan proses enzimatik yang memperbanyak rantai DNA pada daerah spesifik.

f) Tahap Capillary Electrophoresis

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur identifikasi STR pada sampel yang telah diambil, baik *evidence* maupun *reference*. Tahap selanjutnya yaitu 96-*well reaction plate* ditempatkan pada *base plate. Hi-Di Formamide* ditambahkan sebanyak 15 µl ke dalam *well*. Sampel dimasukkan ke dalam setiap *well* sebanyak 1 µl. *Reaction plate* kemudian ditutup dengan 96-*well separator*. *Reaction plate* disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit. *Reaction plate* diproses denaturasi dengan *thermal cycler* dengan suhu 95°C, kemudian *reaction plate* dimasukkan ke dalam *freezer* selama tiga menit.

Sampel yang sudah diproses amplifikasi dan kuantifikasi kemudian dilakukan identifikasi STR dengan menggunakan mesin *Genetic Analyzer 3500 xL*. Hasil dari proses CE akan dianalisis menggunakan *software GeneMapper ID*. Label warna mengeluarkan emisi fluoresen pada panjang gelombang tertentu yang kemudian dideteksi oleh mesin berdasarkan sinar laser yang ditembakkan. Informasi panjang gelombang disimpan dan dianalisis oleh piranti lunak yang kemudian diterjemahkan sebagai puncak-puncak grafik (elektroforegram). Data yang muncul berupa grafik dengan kode STR serta kromosom dari sampel.

g. Analisis Data

Pada tahapan ini, dilakukan prosedur identifikasi kesamaan

alel antara sampel *evidence*
Pada tahap terakhir, hasil analisis
data berupa diagram
elektroforegram diolah menjadi
tabel proyeksi kecocokkan alel

maupun *reference*.
antara sampel *evidence* maupun
reference.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis dilakukan terhadap sampel *evidence* dari ibu dan terduga ayah serta *reference* dari anak. Adapun dari hasil analisis data berupa diagram elektroforegram yang diolah menjadi tabel proyeksi kecocokkan alel antara sampel *evidence* maupun *reference*, didapatkan hasil sebagai berikut:

Diagram Elektroforegram – Sampel 1

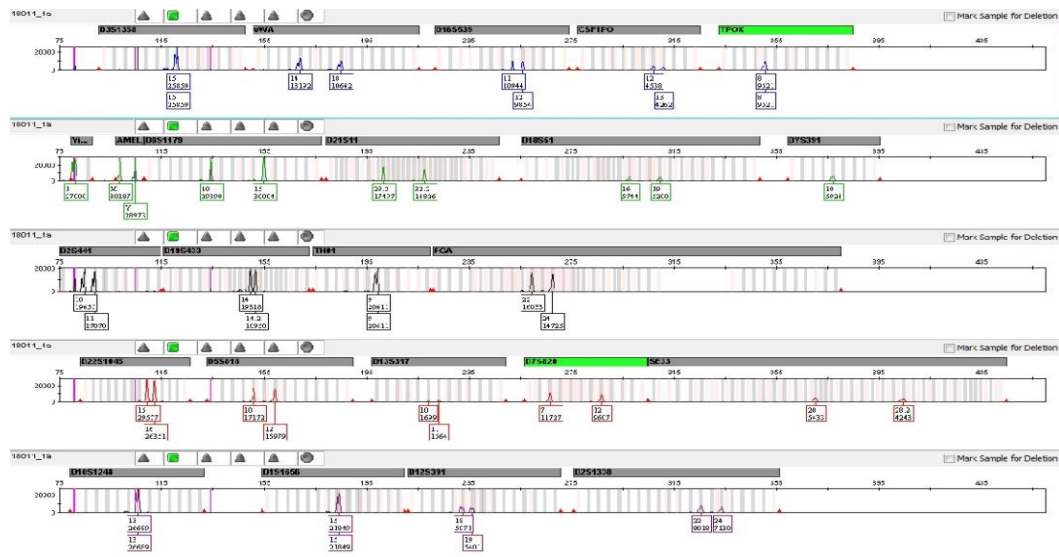


Diagram Elektroforegram – Sampel 2

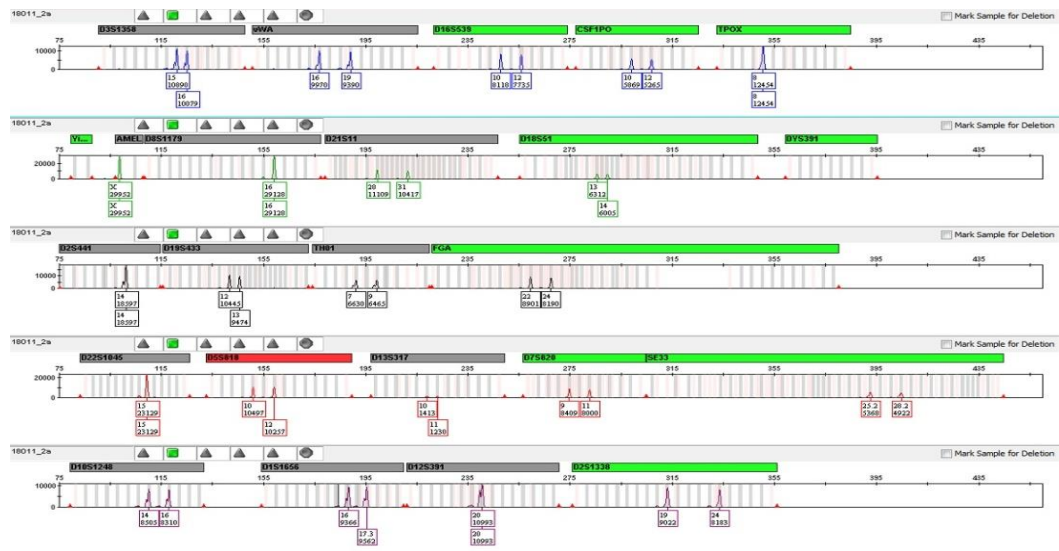
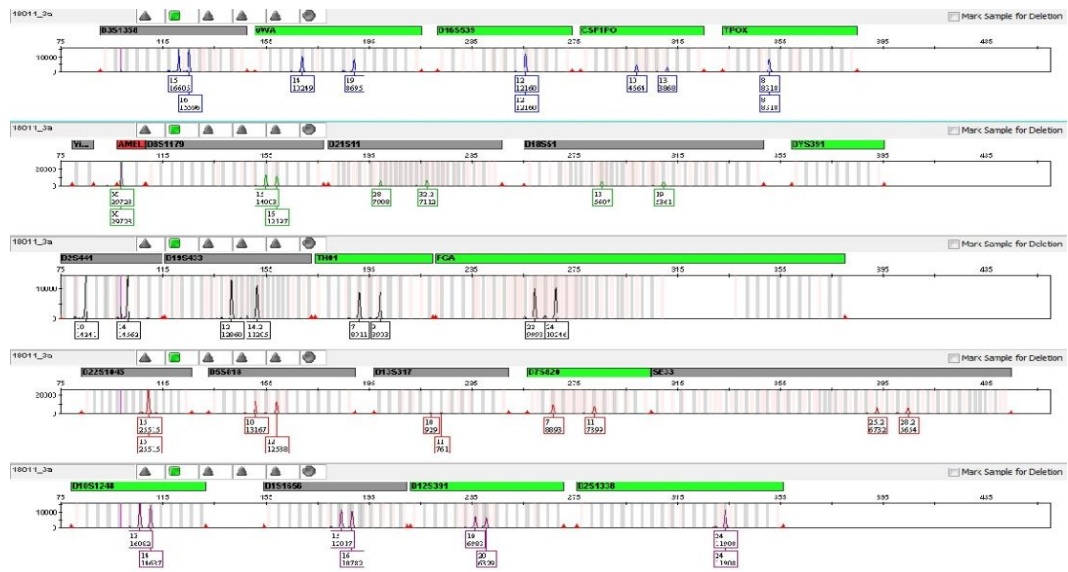


Diagram Elektrofogram – Sampel 3



Gambar 1. Hasil Proyeksi Elektrofogram

Tabel 2. Tabel Proyeksi Kecocokkan Alel

Kode Lab	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539
18011_1	10 15	28.2 32.2	7 12	12 13	15 15	9 9	10 11	11 12
18011_3	15 16	28 32.2	7 11	10 13	15 16	7 9	10 11	12 12
18011_2	16 16	28 31	9 11	10 12	15 16	7 9	10 11	10 12

Kode Lab	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	AMEL	D5S818	FGA
18011_1	22 24	14 14.2	14 18	8 8	16 19	X Y	10 12	22 24
18011_3	24 24	12 14.2	14 19	8 8	13 19	X X	10 12	22 24
18011_2	19 24	12 13	16 19	8 8	13 14	X X	10 12	22 24

Kode Lab	D2S441	D22S1045	SE33	D10S1248	D1S1656	D12S391	DYS391	Yindel
18011_1	10 11	15 16	20 28.2	13 13	15 15	18 19	10	1
18011_3	10 14	15 15	25.2 28.2	13 14	15 16	19 20	-	-
18011_2	14 14	15 15	25.2 28.2	14 16	16 17.3	20 20	-	-

Adapun data dari proses CE dicocokkan dengan *software*, kemudian dari hasil elektrofogram yang masuk ke komputer dilakukan pengeditan terhadap *peak* atau puncak grafik yang tidak sesuai dengan standar. *Peak standard* yang digunakan adalah di antara 75-100 RFU (*Relative Fluorescence Unit*). *Peak* di bawah angka tersebut atau *peak minor* dihapus, sedangkan *peak* yang sesuai dengan standar atau *peak major* dibaca hasil identifikasinya. Pada jenis reagen

GlobalFiler jumlah alel yang terdeteksi sebanyak 24 alel (Gambar 1). Selanjutnya dilakukan pembuatan tabel untuk mempermudah dalam menganalisis keterkaitan *evidence* (target) dengan *reference* (pembanding). Pada hasil yang didapatkan dari hasil proyeksi elektroforegram yang diolah menjadi tabel proyeksi kecocokkan alel diketahui bahwa pemilik sampel *evidence* yaitu sampel target terduga ayah (nomor 1) merupakan ayah biologis dari pemilik sampel *reference* yaitu sampel pembanding anak dengan (nomor 3).

KESIMPULAN

Alur prosedur pemeriksaan yang dilakukan untuk penanganan kasus paternitas di Laboratorium DNA Pusdokes Polri terbagi dalam tujuh tahapan inti. Terdapat kecocokkan DNA antara sampel *evidence* yaitu sampel target terduga ayah (nomor 1) dengan sampel *reference* yaitu sampel pembanding terduga anak (nomor 3).