

EKSTRAKSI DNA SPERMA PADA KONDOM YANG DISIMPAN DALAM RENTANG WAKTU BERBEDA

DNA EXTRACTION OF SPERM IN CONDOM STORED IN DIFFERENT TIME SCALES

A.A. GDE LANANG M.S.^{1*}, I KETUT JUNITHA¹, IDA BAGUS MADE SUASKARA¹

Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Udayana Kampus Bukit Jimbaran, Bali

**Email : Lanangmeidysura@yahoo.co.id*

INTISARI

Sperma adalah bahan biologis yang sering digunakan sebagai bukti untuk kasus pemerkosaan. Penelitian ekstraksi DNA dari sperma dilakukan untuk mengetahui jika DNA dapat diekstraksi dari sperma pada kondom yang tersimpan selama 15, 20, 25, 30, dan 35 hari, serta untuk mengetahui keberhasilan amplifikasinya. Sampel sperma dari seorang probandus (2000 µL) diteteskan ke dalam kondom, kemudian disimpan selama 15, 20, 25, 30, dan 35 hari. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode fenol-kloroform yang sudah dimodifikasi dan amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR Mastermix. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA masih dapat diekstraksi dan diamplifikasi dari sperma dalam kondom yang tersimpan hingga 35 hari.

Kata kunci: sperma, kondom, pemerkosaan, ekstraksi DNA, amplifikasi DNA.

ABSTRACT

Sperm is biological material that is often used as evidence in rape cases. The research of DNA extraction from sperm was conducted in order to determine DNA whether it could be extracted from sperm in the condom and fabrics that were stored for 15, 20, 25, 30 and 35 days and to know the success of its amplification. The sperm sample is dripped into a condom 2000 µL, then stored for 15, 20, 25, 30 and 35 days. DNA extraction was performed using phenol-chloroform method that had been modified and DNA amplification using PCR Mastermix. The research result showed that DNA could be extracted and amplified from sperm in the condom that were stored until 35 days.

Keywords: sperm, condom, rape, DNA extraction, DNA amplification

PENDAHULUAN

Di Indonesia banyak kasus kriminalitas yang terjadi, mulai dari terorisme, pembunuhan, pencurian ataupun tindak pemerkosaan. Salah satu kasus yang banyak terjadi di Indonesia adalah kasus pemerkosaan. Pertanggal 1 Januari hingga 25 Januari 2013 terdapat 25 kasus pemerkosaan dan dua kasus pencabulan. Jumlah pelaku mencapai 45 orang. Jumlah tersebut meningkat dibandingkan dengan tahun 2012 (Kompas, 2013). Khususnya di Provinsi Bali, pada tahun 2009 terjadi 41 kasus kekerasan seksual dan 67 kasus pada tahun 2010.

Pemerkosaan adalah tindakan menyetubuhi wanita atau pria yang bukan pasangannya secara paksa, dan biasanya diikuti dengan kekerasan bahkan pembunuhan. Dari banyaknya kasus pemerkosaan, mengidentifikasi pelaku atau korban dan menentukan waktu terjadinya pemerkosaan selalu menjadi masalah yang sulit untuk diselesaikan oleh pihak berwajib. Pada kasus pemerkosaan sering ditemukan sperma, baik di bagian tubuh korban, terutama vagina atau di media seperti pada kondom atau pakaian korban yang ada di TKP (tempat kejadian perkara). Darah atau sperma ini bisa dijadikan bukti untuk menyelesaikan permasalahan yang

dihadapi pihak berwajib. Berdasarkan bukti tersebut bisa dilakukan identifikasi dengan metode ekstraksi dan analisis DNA, untuk mengkaitkan kasus-kasus pemerkosaan dengan pelaku atau korban.

Metode ekstraksi DNA dikembangkan untuk dapat memisahkan protein dan materi-materi sel lain dari molekul DNA. Salah satu metode yang digunakan saat ini untuk ekstraksi DNA pada laboratorium forensik DNA adalah ekstraksi organik (*phenol-chloroform*), sedangkan untuk analisis hasil ekstraksi ada beberapa metode seperti elektroforesis dengan gel agarosa atau menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Semua sel maupun jaringan makhluk hidup termasuk spermatozoa yang terdapat pada sperma mengandung DNA. Sperma sering digunakan sebagai bukti untuk menyelesaikan kasus pemerkosaan, terutama dalam identifikasi pelaku (Atmadja, 2009). Sisa sperma pada kondom dapat dijadikan bukti yang paling bermanfaat dari kasus yang terkait dengan kejahatan seksual (Gosline, 2005). Karena pada saat ini banyak penyakit seksual yang berpotensi fatal bagi manusia sehingga para pelaku kejahatan seksual pun sudah mulai menggunakan kondom untuk melakukan tindak kejahatan (Blackledge, 2013). Pada kasus pemerkosaan, korban sering tidak

langsung melaporkan ke pihak berwajib sehingga sulit untuk mendapatkan bukti sisa sperma pada vagina korban. Dengan keterlambatan laporan, bukti hanya bisa didapat dari benda-benda yang ada di TKP seperti kondom yang berisi sisa sperma. Berdasarkan penelitian Sihombing (2011), DNA masih dapat diekstraksi dan diamplifikasi dari sisa sperma dalam kondom dengan rentang waktu hingga 12 hari. Berdasarkan latar belakang di atas rentang waktu penyimpanan perlu diperpanjang untuk mengetahui sampai berapa lama DNA masih dapat diekstraksi dari sisa sperma dalam kondom.

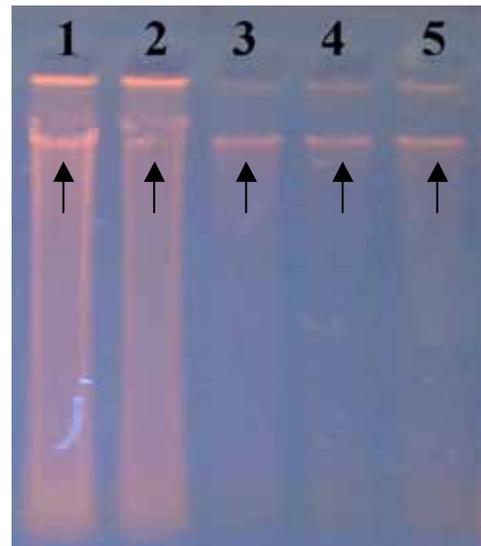
MATERI DAN METODE

Sampel sperma dari seorang probandus diteteskan ke dalam kondom sebanyak 2000 µL, diikat bagian ujungnya kemudian disimpan selama 15, 20, 25, 30, dan 35 hari. Kemudian sampel kontrol (langsung diekstraksi pada saat pengambilan sperma) dan sperma dalam kondom diambil sebanyak 150 µL dan dimasukkan ke dalam tabung mikro ukuran 1,5 mL dan dimasukkan *lysis buffer* (yang berkomposisi 10 mM NaCl 5M, 100 mM EDTA 0,2M, 100 mM Tris-Cl 2M, urea dan air distilasi). Selanjutnya diekstraksi menggunakan metode fenol-kloroform dan presipitasi dengan etanol (Sambrook and Russell, 2001). DNA hasil ekstraksi diresuspensi pada Tris EDTA (TE) 80% sebanyak 50µl. Sampel DNA diamplifikasi pada mesin PCR dengan menggunakan primer khusus kromosom Y yaitu SRY (*Forward*: CCCATGA ACGACATTCATTGTGTGG dan *Reverse*: AATTTAGCCTTCCGACGAGGTCGA TA) dan primer khusus autosom yaitu D19S433 (F: CCTGGGCAACAGAATAAGA T dan R: TAGGTTTTTAAGGAACAGGTGG). Bahan untuk PCR adalah PCR supermix 9,5 µL, DNA sampel 2 µL, sebagai *template*, dan primer mikrosatelit 1 µL dengan volume total 12,5 µL (Junitha, 2007). Proses denaturasi pada suhu 94°C selama 45 detik, penempelan primer pada suhu 54-58°C selama 1'.30" dan pemanjangan DNA pada suhu 72°C selama 2'.15" sebanyak 30 siklus (Sambrook and Russell, 2001) dengan modifikasi. Hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel poliakrilamid (PAGE) 6% selama 90 menit dengan tegangan 110 volt. Untuk visualisasi DNA gel diwarnai dengan metode pewarnaan perak nitrat (Tegelström, 1986).

HASIL

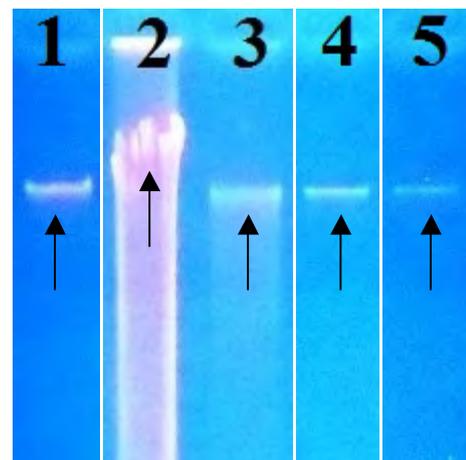
Berdasarkan hasil visualisasi, semua sampel DNA dapat diekstraksi dan diamplifikasi hingga penyimpanan hari ke-35. Pada Gambar 1 dapat dilihat dari 5 sumuran yang berisi sampel hasil ekstraksi, semua sampel didapatkan DNAny (berupa pita berpendar). Sampel 3 sampai 5 terlihat lebih tipis dibandingkan dengan sampel 1 dan 2.

Gambar 2 adalah hasil kuantifikasi sampel DNA sperma dalam kondom. Sumuran 1, 4 dan 5 merupakan pengenceran lambda DNA 50x, 100x dan 200x. sedangkan 2 dan 3 adalah sampel DNA sperma penyimpanan hari ke-20 dan 35. Kuantitas dan kualitas hasil ekstraksi berbeda-beda jika dibandingkan dengan lambda DNA.



Gambar 1. Hasil elektroforesis pada gel agarosa

Keterangan :
1-5 : Sumuran dengan ekstrak DNA sperma pada kondom 15-35 hari
↑ : Pita-pita DNA yang terlihat



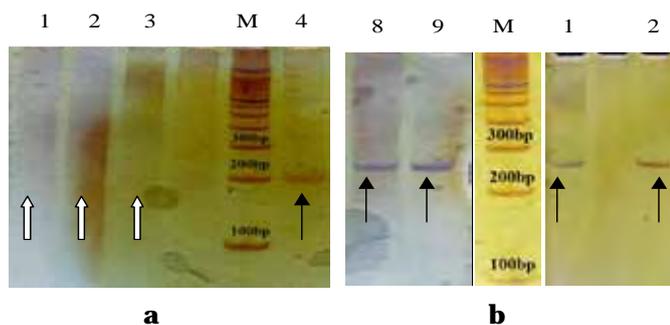
Gambar 2. Hasil Kuantifikasi Sampel Pada Gel Agarosa

Keterangan :
1,4, 5 : Sumuran dengan Pengenceran Lambda DNA 50x, 100x dan 200x
2, 3 : Sumuran dengan ekstrak DNA sperma pada kondom 20 dan 35 hari
↑ : Pita-pita DNA yang terlihat

Gambar 3 merupakan hasil PCR. Pada Gambar 3a terdapat 5 sumuran. Sumuran bernomor 1, 2, dan 3 tidak terlihat pita DNA tetapi pada sumuran 4 terdapat pita DNA. Untuk Gambar 3b, dari 5 sumuran semua terdapat pita DNA. M merupakan marker.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ekstraksi DNA sperma pada kondom yang disimpan dalam rentang waktu 15, 20, 25, 30, dan 35 hari dapat dilihat hingga hari ke 35 DNA masih dapat diekstraksi dan diamplifikasi. Keberhasilan dapat dilihat dengan terdapatnya pita-pita DNA pada hasil visualisasi. Tetapi kualitas dan kuantitas hasil ekstraksi DNA berbeda-beda. Selain itu beberapa sampel DNA tidak terlihat pada hasil visualisasi.



Gambar 3. Hasil Amplifikasi Sampel dengan Primer D19S433 (a) dan Hasil Amplifikasi Sampel dengan Primer SRY (b)

Keterangan gambar (a) :

1-3 : Sumuran dengan ekstrak DNA sperma pada kondom 15, 20 dan 35 hari

M : Marker

4 : Sumuran dengan ekstrak DNA sperma kontrol

↑ : Tidak terlihat pita DNA

↑ : Pita-pita DNA yang terlihat

Keterangan gambar (b) :

8, 9, 1 : Sumuran dengan ekstrak DNA sperma pada kondom 15, 20 dan 35 hari

2 : Sumuran dengan ekstrak DNA sperma kontrol

M : Marker

↑ : Pita-pita DNA yang terlihat

Keberhasilan ekstraksi DNA sperma dari kondom yang telah disimpan hingga 35 hari menunjukkan bahwa DNA tetap dapat diperoleh dari sel spermatozoa yang sudah mati. Menurut Gosline (2005), spermatozoa dalam kondom tanpa spermisida hanya bertahan hidup sekitar 15% dari total sperma hingga 3 hari sedangkan spermatozoa dalam kondom yang mengandung spermisida hanya bertahan sekitar 6%. Kemungkinan hingga hari ke-35 sel spermatozoa sudah mati tetapi belum terjadi kerusakan pada sel spermatozoa. DNA masih bisa didapat dari sel walaupun sel tersebut sudah mengalami kematian (Jiao *et al.*, 2012). Selain itu kemungkinan di dalam kondom terdapat pengawet yang menyebabkan sperma sulit mengalami kerusakan. Tidak terjadinya kerusakan pada sel spermatozoa kemungkinan dikarenakan kondom yang digunakan dalam penelitian ini diikat pada bagian ujung, sehingga bakteri yang membutuhkan oksigen untuk hidup tidak dapat berkembang dengan baik dan tidak mampu mengkontaminasi sel spermatozoa (Szczygiel and Ward, 2002). Selain bakteri, sel sperma juga dapat didegradasi oleh paparan sinar matahari dan deterjen (Sheu and Sheu, 2006; Szczygiel and Ward, 2002). Karena penyimpanan kondom pada penelitian ini didalam ruangan sehingga tidak terpapar matahari secara langsung.

Kualitas hasil ekstraksi DNA sperma baik di dalam kondom maupun pada kain berbeda-beda. Dilihat pada gambar 1 pada sumuran no. 6 dan 7 dengan sampel sperma hasil ekstraksi DNA hari ke 15 dan 20 terlihat gambaran *smear* dibandingkan dengan sampel pada sumuran lainnya yang terlihat lebih bersih. Hasil yang tidak begitu baik ini dapat terjadi karena adanya kontaminasi protein maupun RNA atau zat lainnya sehingga hasil terlihat tebal dan *smear* (kotor) (Junitha. Kom. Pri, 2011). Demikian juga karena proses ekstraksi DNA yang kurang sempurna. Karena menurut Syafaruddin

dan Santoso (2011) hasil ekstraksi DNA yang baik adalah tebal dan tidak *smear* karena mengindikasikan DNA yang didapat utuh. Hal ini menjadi penting karena pada proses PCR, DNA yang masih utuh akan lebih memberikan hasil yang relatif lebih akurat. Selain kualitas, kuantitas hasil ekstraksi juga berbeda.

Pada Gambar 2 sumuran ke-5 dengan sampel ekstraksi DNA sperma hari ke-35, dapat dilihat ketebalan pendaran pita DNA hampir sama dengan ketebalan pendaran sumuran ke-3 yang berisi pengenceran lambda DNA 50x. Dapat diketahui, sebanyak 5 µl sampel hasil ekstraksi DNA sperma dalam kondom yang disimpan selama 35 hari jumlahnya mendekati pendaran dengan konsentrasi 0,2 µg/µl molekul DNA (pengenceran lambda DNA 50x).

Amplifikasi DNA dapat dikatakan berhasil dengan munculnya pita-pita DNA pada sumuran no. 5a, 8b, 9b, 1b, 3b, 4b, dan 5b (Gambar 3). Tetapi pada sumuran no. 1a, 2a, 3a, 4a, dan 2b tidak terdapat pita DNA. Tidak munculnya pita DNA pada sampel-sampel tertentu di penelitian ini dapat dikarenakan kesalahan pada saat memipet sampel ke dalam tabung mikro. Kemungkinan pada saat memipet, sampel DNA tidak terpipet sehingga di dalam tabung tidak terdapat sampel DNA. Hal ini juga terjadi pada penelitian Sihombing (2011). Faktor lain yang mungkin menyebabkan tidak munculnya pita DNA pada proses elektroforesis adalah penambahan TE *buffer* pada proses ekstraksi. TE *buffer* mengandung EDTA, yang dapat membentuk senyawaan kompleks dengan ion logam seperti Mg^{2+} . Dalam hal ini EDTA merupakan *chelating agent*. Mg^{2+} adalah prekursor untuk enzim Taq DNA polymerase yang digunakan pada reaksi PCR, jika jumlah EDTA pada larutan DNA cukup banyak, bisa menyebabkan reaksi PCR menjadi terhambat karena enzim DNA polymerase-nya tidak dapat bekerja secara sempurna.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, DNA sperma dalam kondom masih dapat diekstraksi dan diamplifikasi hingga penyimpanan hari ke-35.

SARAN

Diharapkan untuk penelitian selanjutnya untuk memperpanjang waktu penyimpanan sperma dalam kondom yang terbuka. Sehingga dapat diperkirakan sampai berapa lama DNA sperma tidak dapat diekstraksi dan diamplifikasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Nyoman Sri Handayani, S.Si dan Ni Ketut Nanik Astuti, S.Si atas bantuan selama penulis melaksanakan penelitian di Lab. Biomol. Fak. Kedokteran, Universitas Udayana.

KEPUSTAKAAN

- Atmadja, D.S. 2009. Pemeriksaan Forensik Pada Kasus Perkosaan & Delik Aduan Lain: Available: <http://reproduksi.blogspot.com/.../pemeriksaan-forensik-pada-kasus.html>: Opened: 25/05/2012
- Blackledge. 2013. Condom Trace Evidence a New Factor in Sexual Assault Investigations: Available: <http://crimeandclues.com/2013/01/27/condomtrace-evidence-a-new-factor-in-sexual-assault-investigations/>: Opened: 15/03/2013
- Gosline, Anna. 2005. Sperm Clock Could Pinpoint Time of a Rape: Available: <http://www.newscientist.com/article/dn7079-sperm-clock-could-pinpoint-time-of-a-rape.html>: Opened: 15/03/2013
- Jiao, *et al.* 2012. Comparative Analysis Of Two DNA Extraction Protocols From Fresh And Dried Wood Of *Cunninghamia Lanceolata* (Taxodiaceae). *IWA Journal*, Vol. 33 (4), 2012: 441-456
- Junitha, K. 2007. Penggunaan DNA Mikrosatelit Untuk Penelusuran Kawitan Pada Soroh-soroh Masyarakat Bali (Suatu Kajian Pustaka). *Jurnal Biologi* Vol. XI Nomor 2.
- Kompas. 2013. IPW Kasus Pemerkosaan Meningkatkan Pada Awal Tahun: Available: <http://nasional.kompas.com/read/2013/01/28/19471349/IPW.Kasus.Pemerkosaan.Meningkat.pada.Awal.Tahun>: Opened: 15/03/2013
- Sambrook, J., dan D. W. Russell. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Sheu, I. J., and E. Y. Sheu. 2006. Characterization of DNA Degradation Using Direct Current Conductivity and Dynamic Dielectric Relaxation Techniques: Available at: <http://www.aapspharm-scitech.org/view.asp?art=pt70236> Opened: 16/03/2013
- Sihombing, V.J. 2011. Ekstraksi DNA Dari Sperma Dalam Kondom Dan Noda Pada Kain Yang Tersimpan Pada Rentang Waktu Berbeda (3, 6, 9, Dan 12 Hari). Skripsi Biologi tidak dipublikasikan.
- Syafaruddin dan Tri Joko Santoso. 2011. Optimasi Teknik Isolasi Dan Purifikasi DNA Yang Efisien Dan Efektif Pada Kemiri Sunan (Reutalis Trisperma (Blanco)). *Jurnal Litri*.
- Szczygiel, M. A., and W. S. Ward. 2002. Combination of Dithiothreitol and Detergent Treatment of Spermatozoa Causes Paternal Chromosomal Damage. *Biology Reproduction*. 67: 1532-1537
- Tegelström, H. 1986. Mitochondrial DNA in Natural Population: an Improved Routine for Screening of Genetic Variation Based on Sensitive Silver Staining Electrophoresis 7.