

UJI DIAGNOSTIK PENENTUAN JENIS KELAMIN METODE PEMERIKSAAN *DRUMSTICK* NEUTROFIL DIBANDINGKAN DENGAN METODE PEMERIKSAAN AMELOGENIN DNA (*DEOXYRIBONUCLEIC ACID*)

Nilai Nirmalasari, Yudha Nurhantari, Bambang Udji Djoko Riyanto
Bagian Ilmu Kedokteran Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, RSUP Dr.Sardjito, Yogyakarta, Indonesia

Email : nilanirmalasari@ymail.com

ABSTRACT

The procedural and cost need for drumstick neutrophyl test as we know is more simple and cheap just than amelogenin DNA test. A few researches show the function of drumstick neutrophyl test and amelogenin DNA test for gender determination especially for live human. But still now there is no researches explain the validity of drumstick neutrophyl test than amelogenin gen by DNA-PCR to determine someone's gender. This research is to find out the validity of live human's gender determination, between drumstick neutrophyl test method and amelogenin DNA test method. This research used diagnostic test, with expected sensitivity is 90%. Twenty six blood sample which appropriate with the criteria was analyzed by drumstick neutrophyl test method and amelogenin DNA test method for their gender determination. Statistical analysis was done by two by two table to determine sensitivity, spesificity, positive predictive value, negative predictive value, positive likelihood ratio and negative likelihood ratio. The sensitivity of drumstick neutrophyl test method than amelogenin DNA test method is 83,33%, the spesifity is 71,43%, the positive predictive value is 71,43%, the negative predictive value is 83,33%, positive likelihood ratio is 2,9167, and the negative likelihood ratio is 0,233375.

Keywords : gender determination, drumstick neutrophyl, amelogenin

PENDAHULUAN

Studi kasus akhir-akhir ini ditemukan beberapa individu memiliki keambiguan dalam menentukan jenis kelamin. Hal ini disebabkan oleh morfologi dan perkembangan kelaminnya tidak seperti orang kebanyakan. Kasus-kasus transgender juga sebagai penyebab keambiguan dalam penetapan jenis kelamin. Untuk itu diperlukan pemastian jenis kelamin dari orang tersebut. Salah satu metode tersebut adalah pemeriksaan *drumstick* neutrofil. Metode ini belum memiliki keakuratan yang cukup jika dibandingkan dengan pemeriksaan gen amelogenin DNA. Pada penelitian ini telah dibandingkan keakuratan metode *drumstick* akan dibandingkan dengan hasil pemeriksaan gen amelogenin DNA.

Prosedur dan biaya pemeriksaan drumstick neutrofil sebagaimana diketahui jauh lebih sederhana dan murah dibandingkan dengan gen amelogenin DNA. Beberapa penelitian menunjukkan manfaat pemeriksaan drumsticks neutrofil dan gen amelogenin DNA dalam menentukan jenis kelamin terutama pada individu yang masih hidup. Akan tetapi, belum ditemukan publikasi tentang tingkat

keakuratan pemeriksaan drumstick pada neutrofil dibandingkan dengan pemeriksaan gen amelogenin DNA. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui validitas penentuan jenis kelamin seseorang yang masih hidup dengan metode pemeriksaan drumstick neutrofil dibandingkan dengan metode pemeriksaan amelogenin DNA.

METODE PENELITIAN

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji diagnostik. Pada penelitian ini sampel darah hanya diambil satu kali untuk diperiksa *drumstick* lalu amelogeninnya. Penelitian dilakukan di Instalasi Kedokteran Forensik Rumah Sakit DR. Sardjito Yogyakarta, dimulai bulan Maret sampai Oktober 2012 (pengumpulan sampel Maret sampai Mei 2012). Populasi dalam penelitian ini adalah sejumlah suku Jawa. Subyek penelitian merupakan sukarelawan yang bersedia diperiksa dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi sukarelawan, suku Jawa, berusia di atas 18 tahun, serta menandatangani *informed consent* (bersedia diperiksa). Kriteria eksklusi meliputi fenotipe jenis kelamin tidak normal, serta membatalkan

keikutsertaan mengikuti penelitian oleh karena berbagai sebab. Sampel diambil berdasarkan metode *consecutive sampling*.

Uji diagnostik, digunakan rumus besar sampel tunggal untuk estimasi proporsi suatu populasi, sebagai berikut : $N = Z_{\alpha/2}^2 P(1-P) : d^2 = (1,64^2 \cdot 0,9 \cdot 0,1) : 0,10^2 = 24,2064 \approx 24$, dimana P merupakan arah adalah 0.05 maka berdasarkan tabel diketahui $Z_{\alpha/2}$ sebesar masing-masing 1,64. Setelah dilakukan perhitungan didapatkan jumlah sampel minimal yang harus terpenuhi (N) adalah 24 orang.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil dan gen amelogenin DNA. Variabel yang berpengaruh dalam pengukuran (*intervening variable*) yaitu pengambilan sampel (meliputi pengambilan sampel, alat dan bahan yang digunakan), pengolahan sampel (meliputi pengolahan sampel, alat dan bahan yang digunakan), dan pemeriksaan sampel (meliputi pemeriksaan sampel, alat dan bahan yang digunakan). Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah penentuan jenis kelamin laki-laki atau perempuan.

Analisis hasil penelitian dilakukan dengan memasukkan hasil ke dalam tabel 2x2, lalu dilakukan

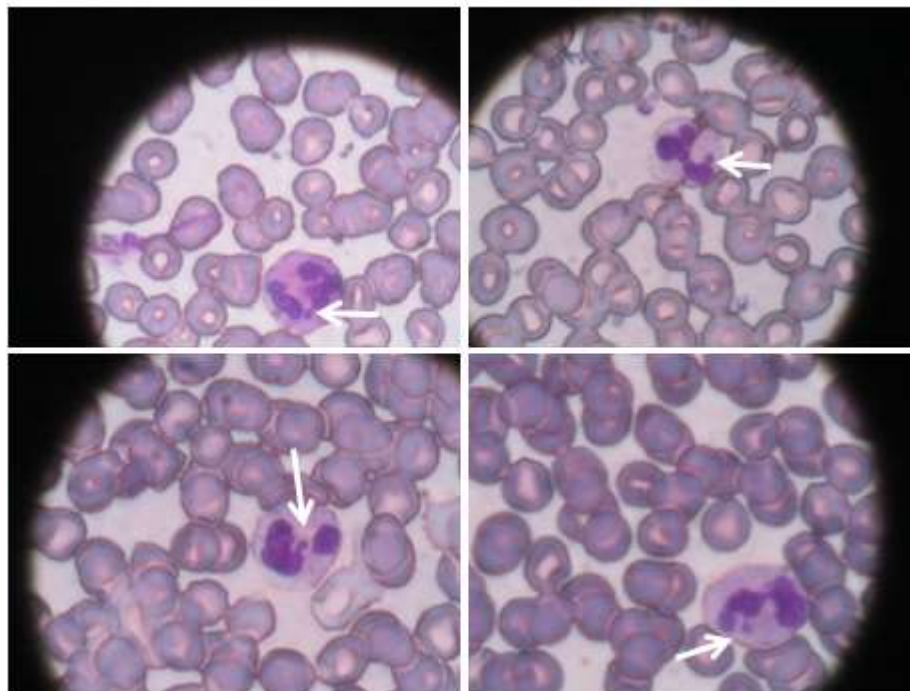
sensitivitas yang dikehendaki, yaitu 90%, 1-P merupakan spesifitas yang dikehendaki 10%, d merupakan tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki, disini ditetapkan 0,10. Tingkat kemaknaan yang diharapkan dalam penelitian ini (α) untuk uji 1

perhitungan sensitifitas, spesifitas, nilai duga positif (NDP), nilai duga negatif (NDN), rasio kecenderungan positif (RKP) dan rasio kecenderungan negatif (RKN).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, yang digunakan sebagai metode *gold* standar untuk menentukan jenis kelamin adalah metode pemeriksaan gen amelogenin, karena tingkat keakuratannya hampir seratus persen, Frances dkk pada tahun 2007 menemukan bahwa ketepatan tes amelogenin sekitar 99,84%, karena ada mutasi gen [1]. Terdapat 26 sukarelawan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Contoh hasil pemeriksaan mikroskopik dari *drumstick* neutrofil dapat dilihat di gambar 1.



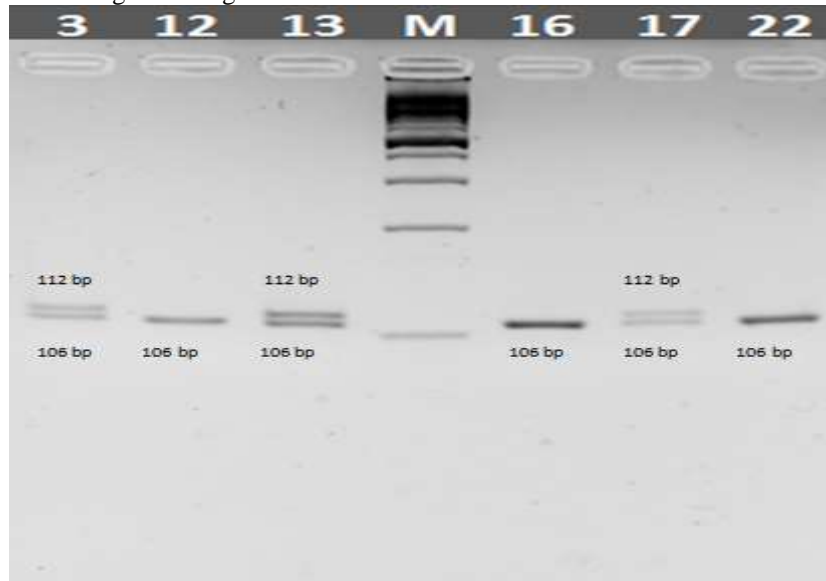
Gambar 1. Contoh Hasil Pemeriksaan *Drumstick* Neutrofil dari 4 Sampel

Berdasarkan pemeriksaan (tabel 1) dengan metode *drumstick*, dari 26 sampel, 14 diantaranya ditemukan *drumstick* neutrofil dan ditentukan berjenis kelamin perempuan, sisanya, 12 sampel ditentukan berjenis kelamin laki-laki. Sedangkan dengan metode

pemeriksaan gen amelogenin DNA, dari 26 sampel, 12 saja yang berjenis kelamin perempuan, sisanya, 14 sampel ditentukan berjenis kelamin laki-laki. Empat sampel ditentukan berjenis kelamin perempuan dengan metode *drumstick*, tetapi berjenis

kelamin laki-laki dengan metode gen amelogenin. Dua sampel ditentukan berjenis kelamin laki-laki dengan metode *drumstick*, tetapi berjenis kelamin perempuan dengan metode gen amelogenin.

Hasil pemeriksaan gen amelogenin sampel ditampilkan dalam gambar 2.



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Sampel Gen Amelogenin DNA

Pada akhir penelitian dilihat data fenotif untuk dinilai kesesuaiannya dengan metode amelogenin DNA dan diketahui adanya kecocokan 100%

Penetapan jenis kelamin dengan metode *drumstick* diperoleh hasil 14 sampel berjenis kelamin perempuan dan 12 lainnya adalah laki-laki. Hasil yang berbeda ditemukan pada pemeriksaan amelogenin DNA, yaitu 12 berjenis perempuan dan 14 laki-laki. Keraguan ditemukan pada empat sampel berdasarkan metode *drumstick* dinyatakan berjenis kelamin perempuan, namun menurut amelogenin DNA berjenis kelamin laki-laki. Sedangkan dua sampel adalah laki-laki berdasarkan *drumstick* dan sebaliknya menurut amelogenin DNA. Positif palsu pada empat sampel dapat disebabkan oleh kurang bersihnya apusan

darah tepi dan besarnya ukuran kromosom Y atau dikenal dengan *pseudodrumstick* [2]. Sedangkan dua sampel negatif palsu dapat disebabkan oleh kurangnya ketelitian dan pengalaman dalam membaca dan menerjemahkan hasil pembacaan preparat *drumstick*.

Kesalahan interpretasi dan pembacaan hasil preparat *drumstick* dapat disebabkan oleh keakuratan dalam pembuatan preparat uji, kurangnya jumlah neutrofil sampel [3,4], subyektivitas pemeriksaan, jam terbang dalam pemeriksaan *drumstick*. Dalam pemeriksaan *drumstick* diperlukan jumlah neutrofil yang cukup, setidaknya enam *drumstick* per lima ratus neutrofil harus ada untuk menentukan seseorang perempuan [5].

Tabel 1. Tabel Uji Diagnostik Penentuan Jenis Kelamin dengan Metode *Drumstick* Dibandingkan dengan Gen Amelogenin

		AMELOGENIN		
		Perempuan	Laki-laki	
<i>DRUMSTICKS</i>	Perempuan (+)	a = 10	b = 4	N1 = 14
	Laki-laki (-)	c = 2	d = 10	N2 = 12
		N3 = 12	N4 = 14	N = 26

Keterangan :

- a = hasil *drumstick* perempuan, hasil amelogenin perempuan
- b = hasil *drumstick* perempuan, hasil amelogenin laki-laki
- c = hasil *drumstick* laki-laki, hasil amelogenin perempuan
- d = hasil *drumstick* laki-laki, hasil amelogenin laki-laki

- N1 = jumlah perempuan menurut pemeriksaan *drumstick*
- N2 = jumlah laki-laki menurut pemeriksaan *drumstick*
- N3 = jumlah perempuan menurut pemeriksaan amelogenin
- N4 = jumlah laki-laki menurut pemeriksaan amelogenin

Sensitivitas (Sn) = $a/N3 \times 100\% = 10/12 \times 100\% = 83,33\%$
 Spesifitas (Sp) = $d/N4 \times 100\% = 10/14 \times 100\% = 71,43\%$
 Nilai duga positif (NDP) = $a/N1 \times 100\% = 10/14 \times 100\% = 71,43\%$

Nilai duga negatif (NDN) = $d/N2 \times 100\% = 10/12 \times 100\% = 83,33\%$
 Rasio kecenderungan positif (RKP) = $Sn/(1-Sp) = 2,9167$
 Rasio kecenderungan negatif (RKN) = $(1-Sn)/Sp = 0,233375$

Standarisasi cara pembuatan apusan, pemeriksaan dan pembacaan dapat dilakukan sebagai upaya mengurangi kelemahan metode ini, termasuk dengan cara pendokumentasian gambaran mikroskopik *drumstick* sehingga bisa dinilai ulang jika ada keraguan. Salah satu sumber referensi menyatakan bahwa variasi ini mungkin tergantung dari perbedaan jaringan dan variasi faktor-faktor teknik. Bagian inti yang lain dapat salah ambil untuk badan kromatin seks akibat peneliti kurang berpengalaman. Grob dan Kupperman di tahun 1961 mengatakan kemungkinan subyektif penentuan asal dari kromatin seks dan

mereka menekankan pentingnya penggunaan teknik reproduibel dan skoring pengalaman [6]. Pada akhir penelitian, dilihat data fenotif untuk dinilai kesesuaiannya dengan metode amelogenin DNA dan diketahui adanya kecocokan 100% hasilnya. Hasil ini menjawab kekhawatiran peneliti akan kemungkinan terjadinya mutasi gen amelogenin pada subjek penelitian yang dipilih yaitu suku Jawa. Meskipun, hasilnya tidak bisa digeneralisasi untuk seluruh suku Jawa karena jumlah sampel sedikit, tetapi dapat diasumsikan bahwa seluruh sampel tidak mengalami mutasi.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Sensitivitas, Spesifitas, Nilai ramal positif, Nilai ramal negatif, Rasio kecenderungan positif dan Rasio kecenderungan negatif Metode *Drumstick* Dibandingkan dengan Gen Amelogenin

Sensitivitas	83,33%	proporsi subyek yang perempuan dengan hasil uji diagnostik positif (positif benar) dibanding seluruh subyek perempuan (positif benar + negatif semu)
Spesifisitas	71,43%	proporsi subyek yang laki-laki dengan hasil uji diagnostik negatif (negatif benar) dibanding seluruh subyek yang laki-laki (negatif benar + positif semu)
Nilai ramal positif	71,43%	probabilitas seseorang perempuan apabila uji diagnostiknya positif <i>drumsticknya</i>
Nilai ramal negatif	83,33%	probabilitas seseorang laki-laki apabila uji diagnostiknya negatif <i>drumsticknya</i>
Rasio kecenderungan positif	2,9167	perbandingan antara proporsi subyek perempuan yang memberi hasil uji positif dengan proporsi subyek yang laki-laki yang memberi hasil uji positif
Rasio kecenderungan negatif	0,233375	perbandingan antara proporsi subyek perempuan yang memberi hasil uji negatif dengan proporsi subyek laki-laki yang memberi hasil uji negatif

Sensitivitas metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil (tabel 2) cukup tinggi jika dibandingkan dengan metode gen amelogenin DNA, yaitu 83,33%. Hasil ini menunjukkan proporsi subyek yang perempuan dengan hasil uji diagnostik positif *drumsticknya* (positif benar) dibanding seluruh subyek perempuan (positif benar ditambah negatif semu) cukup tinggi. Metode ini mempunyai kemampuan tinggi dalam menemukan *drumstick* (menentukan jenis kelamin perempuan). Akan tetapi, sensitivitas 83,33% ini masih belum mencapai sensitivitas yang diharapkan ketika menentukan jumlah besar sampel di awal yaitu 90%. Ini bisa dimungkinkan karena jumlah sampel yang sedikit.

Spesifisitas metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil (tabel 2) juga cukup tinggi jika dibandingkan dengan metode gen amelogenin DNA, yaitu 71,43%. Hasil ini menunjukkan proporsi subyek yang laki-laki dengan hasil uji diagnostik negatif (negatif benar) dibanding seluruh subyek yang laki-laki (negatif benar ditambah positif semu). Ini juga menunjukkan kemampuan metode ini dalam menyingkirkan subyek yang tidak memiliki *drumstick* (jenis kelamin laki-laki) cukup tinggi, tapi tidak setinggi kemampuannya menemukan *drumstick*. Ini mungkin disebabkan tingginya ekspektasi menemukan *drumstick* setiap kali melakukan pemeriksaan. Nilai ramal positif metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil (tabel 2) juga cukup tinggi, yaitu 71,43%.

Ini menunjukkan besarnya peluang seseorang diputuskan berjenis kelamin perempuan apabila uji diagnostiknya positif *drumstick*nya, maksudnya peluang bahwa orang yang *drumstick*nya positif benar-benar perempuan.

Nilai ramal negatif metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil (tabel 2) juga cukup tinggi, yaitu 83,33%. Ini menunjukkan besarnya peluang seseorang diputuskan berjenis kelamin laki-laki apabila uji diagnostiknya negatif *drumstick*nya, maksudnya peluang bahwa orang yang *drumstick*nya negatif benar-benar laki-laki.

Rasio kecenderungan positif metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil yaitu 2,9167. Ini menunjukkan perbandingan antara proporsi subyek perempuan yang memberi hasil uji positif dengan proporsi subyek yang laki-laki yang memberi hasil uji positif. Rasio kecenderungan negatif metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil yaitu 0,233375. Ini menunjukkan perbandingan antara proporsi subyek perempuan yang memberi hasil uji negatif dengan proporsi subyek laki-laki yang memberi hasil uji negatif. Jadi, kemungkinan hasil tes *drumstick* positif didapat pada perempuan dibandingkan laki-laki sebanyak 2,9167 kali, sedangkan kemungkinan hasil tes *drumstick* negatif didapat pada laki-laki dibandingkan dengan perempuan sebanyak 0,233375 kali.

KESIMPULAN

Sensitivitas metode pemeriksaan *drumstick* neutrofil jika dibandingkan dengan metode gen amelogenin DNA yaitu 83,33%, sedangkan spesifisitasnya yaitu 71,43%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Francès F, Portolés O, González JI, Coltell O, Verdú F, Castelló A, Corella D. Amelogenin test: From forensics to quality control in clinical and biochemical genomics. *Clin Chim Acta*.2007; 386 (1-2): 53–6
- [2]. Moore CM, Ronald S. Weinger MD. Pseudo-drumsticks in granulocytes of a male with a Yqh+ polymorphism. *American Journal of Hematology* 1980; 8:4: 411–414
- [3]. Junquiera LC, Carneiro J. Blood cells (chapter 12). In: ebook Basic Histology Text & Atlas. 11th Ed. USA: Lange McGrawHill. 2007
- [4]. Bergman. Blood. In: Atlas of Microscopic Anatomy Section 4. <http://www.anatomyatlases.org>. Accessed 13 01 2011
- [5]. Schapiro B. A drumsticks?. *NEJM*. 1996; 33:291.
- [6]. Anonymous. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology, and Biochemistry. US Government Printing Office 2009; p.665-6