

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Kuantitas Dan Kualitas DNA Hasil Ekstraksi Dari Bercak Darah Pada Pisau Pasca Paparan Sinar Ultraviolet Dan Matahari

Quantity And Quality Of DNA Extracted From Blood Stains On The Blade After Exposure To Ultraviolet Light And The Sun

Putri Arie Prasetyoningrum^{1*}, I Ketut Junitha², Dwi Ariani Yulihastuti³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Jl. Raya Kampus Unud Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia 80361

*Email: ptriarie@gmail.com

INTISARI

Pemeriksaan *Deoxyribonucleic Acid* merupakan metode identifikasi *primer* dalam kasus forensik. Bercak darah yang ditemukan di tempat kejadian perkara seringkali terpengaruh oleh berbagai faktor lingkungan salah satunya sinar ultraviolet dari matahari. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan kuantitas dan kualitas DNA hasil ekstraksi dari bercak darah pada pisau pasca paparan sinar ultraviolet dan matahari selama 0, 15 dan 30 hari. Metode yang digunakan yaitu Rancangan Faktorial; sumber sinar (UVA, sinar matahari secara langsung dan tidak langsung); dan lama perlakuan (0, 15 dan 30 hari). Bercak darah dibuat dengan diteteskan 50 µL sampel darah manusia pada satu sisi mata pisau kemudian diberikan perlakuan. Analisis DNA meliputi ekstraksi dengan Chelex 5%; uji kuantitas dan kualitas DNA dengan spektrofotometer SimpliNano; dan uji kualitas DNA total dengan elektroforesis gel *agarose*; serta PCR. Analisis data kuantitatif menggunakan uji *Univariate* yang dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kuantitas DNA pada sampel yang dipaparkan sinar UVA dan matahari (secara langsung) mengalami peningkatan pada hari ke-15 akibat fragmentasi DNA sedangkan sampel yang terpapar sinar matahari (secara tidak langsung) mengalami penurunan kuantitas DNA dengan semakin lamanya perlakuan. Kualitas DNA berupa kemurnian DNA menghasilkan ekstrak DNA yang tidak murni. Kualitas DNA total dengan elektroforesis gel *agarose* pada semua sampel menunjukkan bahwa semakin lamanya perlakuan menghasilkan pita pendaran DNA yang semakin redup atau tipis dengan noda memanjang (*smear*).

Kata kunci: bercak darah, UVA, sinar matahari, kuantitas DNA, kualitas DNA.

ABSTRACT

Examination of Deoxyribonucleic Acid is the primary identification method in forensic cases. Blood stains found at the scene of a crime are often affected by various environmental factors, one of which is ultraviolet light from the sun. Purpose of this study is to compare the quantity and quality of DNA extracted from blood stains on the blade after exposure to ultraviolet light and the sun for 0, 15 and 30 days. The method used is a factorial design: light source (UVA, indirect sunlight and direct sunlight); and duration of treatment (0, 15 and 30 days). Blood stains are made by dripping a 50µL of human blood on one side of the blade and then given treatment. DNA analysis includes: extraction with Chelex 5%; DNA

quantity and quality test with SimpliNano spectrophotometer; total DNA quality test with agarose gel electrophoresis; and PCR. Quantitative data analysis using Univariate test followed by Duncan test. The results showed that the quantity of DNA in samples exposed to UVA and sunlight (directly) increased on the 15th day due to DNA fragmentation while samples exposed to sunlight (indirectly) decreased the quantity of DNA with the duration of treatment. DNA quality in the form of DNA purity produces an extract of DNA that is not pure. The total DNA quality with agarose gel electrophoresis on all samples showed that the longer the treatment resulted in a dimmer or thinner band of DNA luminescence with smears.

Keywords: blood stains, UVA, sunlight, quantity of DNA, quality of DNA

PENDAHULUAN

Metode identifikasi dalam kasus forensik terdiri dari dua jenis yaitu identifikasi primer dan sekunder. Metode identifikasi primer yang diakui oleh Interpol yaitu sidik jari, analisis *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), status gigi geligi dan antropologi atau radiologi forensik (Taylor and Kieser, 2016). Menurut Notosoehardjo (2003) pemeriksaan DNA dipilih karena komponennya yang bersifat individual dan spesifik, sehingga dapat membedakan satu individu dengan individu yang lain. Darah merupakan salah satu material biologis yang potensial dalam pembuktian dalam kasus pidana (Yudianto, 2013). Bercak darah mengandung komponen darah yang potensial yaitu sel darah yang memiliki inti sel sebagai sumber DNA (National Institute of Justice, 2013).

Barang bukti biologis pada tempat kejadian perkara (TKP), seringkali tidak dalam kondisi yang baik atau sudah terpengaruh oleh berbagai faktor lingkungan (Hall *et al.*, 2014). Salah satu faktor lingkungan yang mendominasi di Indonesia sebagai negara tropis yaitu paparan sinar matahari (Yosephin *et al.*, 2014). Matahari mampu memancarkan gelombang elektromagnetik berupa energi radiasi yaitu sinar ultraviolet (UV). Sinar ultraviolet-A merupakan salah satu sinar ultraviolet yang dipancarkan matahari, dimana UVA mampu memancarkan 95% radiasinya hingga ke bumi (Hall *et al.*, 2014). Paparan sinar radiasi menurut Alaeddini *et al.* (2010) dapat menurunkan kualitas pada sampel DNA yang ditunjukkan dengan adanya kegagalan dalam proses amplifikasi.

Pengaruh sinar UV terhadap DNA juga diteliti pada beragam media sebagai tempat ditemukannya bercak darah. Hall *et al.* (2014) menyatakan bahwa paparan sinar UVA dan UVB pada bercak darah di kain katun menyebabkan modifikasi basa DNA dan pemutusan untai DNA sehingga mempengaruhi kuantitas hasil ekstraksi DNA. Penelitian Jauhani *et al.* (2020) menunjukkan bahwa paparan sinar ultraviolet-C dan tanah menyebabkan degradasi DNA pada sampel bercak darah berupa fragmentasi DNA sehingga terjadi peningkatan kuantitas DNA yang disertai dengan penurunan kualitas DNA. Penelitian Putri dan Junitha (2015) menunjukkan bahwa hasil kuantitas dan kualitas dari ekstraksi DNA darah kering pada besi dan kayu akan mengalami penurunan sejalan dengan lama waktu penyimpanan. Hal ini sejalan dengan penelitian Fattorini *et al.* (1999) dimana hasil analisis DNA dari dua bercak darah yang berusia tiga belas tahun menunjukkan penurunan kualitas DNA secara struktural yang tidak utuh.

Penggunaan beragam media bercak darah dan kaitannya dengan sinar UV serta matahari dalam penelitian DNA merupakan gambaran yang dibuat berdasarkan berbagai penemuan barang bukti kasus kejahatan di tempat kejadian perkara (TKP) (Hall *et al.*, 2014; Putri dan Junitha, 2015; dan Jauhani *et al.*, 2020). Namun, belum ada yang meneliti pengaruh sinar UV dan matahari pada pisau. Pisau menurut Langi (2016) merupakan salah satu senjata tajam dalam kasus kejahatan yang sering terjadi dalam masyarakat. Hal ini sejalan dengan data Badan Pusat Statistik Indonesia (2020), bahwa kasus pencurian dengan kekerasan menggunakan senjata tajam pada tahun

2019 berjumlah 687 kasus yang lebih tinggi dari pada menggunakan senjata api yaitu 143 kasus. Berdasarkan hal tersebut, maka pentingnya dilakukan penelitian pada pisau yang dikombinasikan dengan paparan sinar UV dan matahari terhadap kuantitas dan kualitas DNA hasil ekstraksi dari bercak darah.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 8 Maret 2022 sampai 25 Mei 2022. Pengambilan darah manusia dari probandus dilakukan di RSPTN Universitas Udayana, Jimbaran, Bali. Perlakuan pada sampel dilaksanakan di UPT Laboratorium Forensik Universitas Udayana, Jimbaran. Analisis DNA terdiri dari ekstraksi DNA dengan Chelex 5%, uji kuantitas dan kualitas DNA dengan spektrofotometer SimpliNano dan uji kualitas DNA total menggunakan elektroforesis gel *agrose* serta PCR yang dilaksanakan di UPT Laboratorium Forensik Universitas Udayana dan Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Metode

Rancangan percobaan penelitian menggunakan Rancangan Faktorial dengan 2 faktor; sumber sinar (UVA, tidak terpapar sinar matahari secara langsung dan sinar matahari) dan lama perlakuan (0, 15 dan 30 hari). Pelaksanaan penelitian berupa pengambilan sampel darah probandus, perlakuan pada sampel dan analisis DNA yang dilakukan sebagai berikut.

Pengambilan sampel darah probandus

Pengambilan darah manusia dari 1 probandus berjenis kelamin laki-laki dilakukan melalui intravena yang diambil oleh tenaga ahli sebanyak 2 mL. Sampel darah dimasukkan ke dalam *vacuum tube* EDTA berukuran 3 mL (Siswanto *et al.*, 2016). Kriteria sampel darah manusia meliputi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi yang berdasarkan syarat pendonor darah menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI (2015).

Perlakuan pada sampel

Darah segar dari probandus sebanyak 50 μ L langsung diproses ke tahap ekstraksi DNA sebagai kelompok kontrol (K1). Pada sampel lainnya yaitu digunakan satu sisi mata pisau yang berbahan *stainless steel* lalu dibuat bercak darah dengan meneteskan sampel darah manusia sebanyak 50 μ L menggunakan pipet mikro secara tegak lurus pada sudut 90° (Elpia *et al.*, 2016). Selanjutnya, pisau diberikan perlakuan yaitu dipaparkan sinar dalam kotak UVA menggunakan *Evaco BLB 20W* dengan jarak 3,2 cm (Rahi *et al.*, 2021); panjang gelombang UVA 340, 05 nm; dosis UVA sebesar 4,700-4,603 Ws/cm² (P1), tidak dipaparkan sinar secara langsung (diletakkan di dalam ruangan) (P2), dipaparkan penyinaran matahari (P3) dan pisau yang tidak disinari pada hari ke-0 (1 jam pengeringan) sebagai kelompok kontrol (K2). Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Penyinaran pada sampel kelompok perlakuan dilakukan selama 15 dan 30 hari yang disesuaikan dengan perkiraan waktu terbit-tenggelam matahari setiap harinya di Jimbaran berdasarkan info perkiraan cuaca BMKG (2022). Bercak darah dari semua kelompok sampel pada waktu atau hari akhir pengamatan diambil dengan cara diusap pada masing-masing satu sisi mata pisau dengan *cotton swab* steril yang ditetesi aquades steril hingga bersih. *Cotton* dari *swab* tersebut dilanjutkan dengan ekstraksi DNA.

Analisis DNA

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA pada sampel bercak darah dilakukan menggunakan metode Chelex 5% (Willard *et al.*, 1998). Sampel darah segar sebanyak 50 μ L dimasukkan pada *tube* 1,5 mL kemudian ditambahkan 200 μ L PBS (*Phosphate Buffer Saline*) 1x. Sampel bercak darah pada *cotton swab* dibersihkan ke dalam *tube* 1,5 mL yang berisi 200 μ L PBS (*Phosphate Buffer Saline*) 1x. Selanjutnya semua sampel divortex selama 5 detik kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Sampel dilanjutkan dengan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 3 menit. Supernatan dihilangkan sebanyak \pm 150 μ L lalu ditambahkan 200 μ L Chelex 5%. Sampel dilanjutkan dengan

diinkubasi pada *water bath* pada suhu 56° selama 30 menit lalu divortex selama 5 detik. Selanjutnya sampel diinkubasi pada *hot plate* dengan suhu 100°C selama 8 menit kemudian divortex selama 5 detik. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 3 menit dan supernatan diambil \pm 100 μ L dan dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 mL. Sampel disimpan dalam *refrigerator* untuk uji kuantitas DNA dan dilanjutkan dengan uji kualitas DNA serta PCR.

b. Uji kuantitas dan kualitas DNA dengan spektrofotometer SimpliNano

Uji kuantitas DNA hasil ekstraksi diawali dengan menyiapkan alat spektrofotometer SimpliNano. Persiapan dilakukan dengan menyalakan alat tersebut kemudian diatur panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Selanjutnya dilakukan uji blanko dengan Chelex 5% dan distrerilkan dengan aquades. DNA hasil ekstraksi ditambahkan pada tempat sampel sebanyak 1 μ L. Hasil uji ini berupa konsentrasi DNA dengan satuan ng/ μ L dan kemurnian DNA dari perbandingan $\text{\AA}260$ nm dengan $\text{\AA}280$ (BioChrom, 2015).

c. Uji kualitas DNA total menggunakan elektroforesis gel agarose

Uji kualitas DNA hasil ekstraksi diawali dengan 1,5% gel *agarose* sebanyak 0,52 gr pada tabung Erlenmeyer ditambahkan 35 mL TBE (*Tris Borat EDTA*) 1x. Selanjutnya dipanaskan pada suhu 70°C menggunakan *microwave* selama 1 menit, lalu didiamkan hingga hangat kuku. Tabung Erlenmeyer tersebut ditambahkan 1 μ L *Gel Red* kemudian sisir sumuran dipasang pada cetakan gel lalu gel ditambahkan ke dalam cetakan hingga memadat \pm 20 menit. Setelah gel memadat sisir sumuran diangkat vertikal secara perlahan-lahan. Gel ini kemudian dimasukkan ke dalam tangka elektroforesis lalu ditambahkan *buffer* TBE (*Tris Borat EDTA*) 0,5x hingga gel terendam. Sampel DNA sebanyak 3 μ L dicampurkan dengan 1 μ L *loading buffer* di atas kertas parafilm. Campuran sampel dan 2 μ L DNA *ladder* 100 bp lalu dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran gel. Mesin elektroforesis kemudian dialiri listrik dengan tegangan 50 Volt

selama 30 menit. Hasil visualisasi dengan *UV-transilluminator* diamati dan difoto (*Dewinta et al.*, 2022).

d. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Uji kualitas DNA menggunakan PCR diawali dengan preparasi reagen. *Tube* PCR 0,2 mL ditambahkan 7,5 μ L *master mix*, 5,1 μ L *nuclease-free water* dan 1,2 μ L *primer* (D11S1984, SRY dan Amelogenin) lalu divortex selama 5 detik. Selanjutnya 1,2 μ L DNA ditambahkan ke dalam *tube* PCR 0,2 mL yang berisi reagen kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan dilanjutkan menggunakan sentrifugasi mini. Campuran ini lalu dimasukkan ke dalam mesin PCR. Proses PCR dilakukan sebanyak 35 siklus yang terdiri dari *intial incubation* pada suhu 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan *denaturation* pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* selama 1 menit pada suhu 58°C (*primer* D11S1984); 62°C (*primer* SRY); 62°C (*primer* Amelogenin), *extention* pada suhu 72°C selama 1 menit dan *final extention* pada suhu 72°C selama 10 menit.

Hasil PCR dielektroforesis dengan gel *agarose* 1,5% dalam dalam *buffer* TBE (*Tris Borat EDTA*) 1x. Sampel yang digunakan 3 μ L dan *size marker* menggunakan 2 μ L DNA *ladder* 100 bp. Elektroforesis dilakukan selama 50 menit pada tegangan 50 Volt. Proses visualisasi pita DNA dilakukan dengan *UV transilluminator*.

Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh berupa konsentrasi DNA (ng/ μ L) dan kemurnian DNA ($\text{\AA}260:\text{\AA}280$) dari ekstraksi DNA bercak darah pada masing-masing kelompok sampel. Analisis data kuantitatif dilakukan menggunakan aplikasi *IBM SPSS For Windows Versi 25* dengan Uji *Univariate*. Jika terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan Uji *Duncan*.

HASIL

Kuantitas dan Kualitas DNA dengan Spektrofotometer SimpliNano

Hasil ekstraksi DNA dari 24 sampel kemudian diuji menggunakan spektrofotometer SimpliNano. Kuantitas DNA yang didapat berupa konsentrasi DNA dan kualitas DNA berupa kemurnian DNA. Analisis statistik uji *Univariate* menunjukkan bahwa sumber sinar dan lama perlakuan berbeda nyata terhadap rata-rata

konsentrasi DNA ($\text{ng}/\mu\text{L}$) ($p < 0,05$). Selain itu, didapati bahwa terjadi interaksi antara sumber sinar dan lama perlakuan rata-rata konsentrasi DNA ($\text{ng}/\mu\text{L}$) ($p < 0,05$). Hasil ini kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan* yang ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis statistik rata-rata konsentrasi DNA pada uji kuantitas menggunakan spektrofotometer SimpliNano dengan uji *Univariate* yang dilanjutkan dengan uji *Duncan*

Perlakuan	Lama perlakuan (hari)			Rata-rata konsentrasi DNA (sumber sinar)	
	Segar	0	15		30
K1	155,40 \pm 3,31			155,40a	
K2		135,57 \pm 1,65		135,57b	
P1			218,66 \pm 3,412	116,16 \pm 1,84	167,41c
P2			125,70 \pm 2,40	72,63 \pm 16,50	99,17d
P3			204,56 \pm 4,45	126,70 \pm 2,76	165,63c
Rata-rata konsentrasi DNA (lama perlakuan)	155,40a	135,57b	182,98c	105,17d	

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda di belakang angka menunjukkan perbedaan yang nyata antar kolom dan antar baris pada taraf 5% ($p < 0,05$); Angka di belakang tanda (\pm) menunjukkan standar deviasi; Data rata-rata konsentrasi DNA dalam satuan $\text{ng}/\mu\text{L}$.

(K1) Sampel kelompok kontrol berupa darah segar yang langsung diekstraksi; (K2) Sampel kelompok kontrol berupa bercak darah pada pisau di hari ke-0 (1 jam pengeringan) dan tanpa perlakuan penyinaran; (P1) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak darah pada pisau yang dipaparkan sinar UVA; (P2) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak darah pada pisau yang tidak dipaparkan sinar secara langsung (diletakan di dalam ruangan); (P3) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak darah pada pisau yang dipaparkan sinar matahari

Berdasarkan uji *Duncan* menunjukkan perbedaan nyata pada rata-rata konsentrasi DNA sampel P1, P2 dan P3 jika dibandingkan dengan sampel K1 (155,40 $\text{ng}/\mu\text{L}$) dan K2 (135,57 $\text{ng}/\mu\text{L}$) (Tabel 1), sedangkan pada sampel P1 tidak berbeda nyata dengan sampel P3 (Tabel 1). Selain itu, dapat diamati bahwa seluruh sampel dengan lama perlakuan 15 dan 30 hari memberikan rata-rata konsentrasi DNA yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan sampel K1 (155,40 $\text{ng}/\mu\text{L}$) dan K2 (135,57 $\text{ng}/\mu\text{L}$) (Tabel 1). Kombinasi antara sumber sinar dan lama perlakuan menyebabkan rata-rata konsentrasi DNA pada sampel 15P1 (218,66 \pm 3,412 $\text{ng}/\mu\text{L}$) dan 15P3 (204,56 \pm 4,45 $\text{ng}/\mu\text{L}$) yang seolah-olah lebih tinggi jika dibandingkan dengan sampel K1 dan

K2 kemudian dilanjutkan dengan penurunan pada sampel 30P1 (116,16 \pm 1,84 $\text{ng}/\mu\text{L}$) dan 30P3 (126,70 \pm 2,76 $\text{ng}/\mu\text{L}$) (Tabel 1). Namun, pada sampel 15P2 (125,70 \pm 2,40 $\text{ng}/\mu\text{L}$) dan 30P2 (72,63 \pm 16,50 $\text{ng}/\mu\text{L}$) terjadi penurunan rata-rata konsentrasi DNA seiring dengan lamanya perlakuan jika dibandingkan dengan K1 dan K2 (Tabel 1).

Analisis statistik uji *Univariate* menunjukkan bahwa sumber sinar berbeda nyata terhadap kualitas DNA ($\text{\AA}260:\text{\AA}280$) ($p < 0,05$) sedangkan lama perlakuan dan interaksi antara sumber sinar dan lama perlakuan tidak ditemukan perbedaan nyata terhadap kualitas DNA ($\text{\AA}260:\text{\AA}280$) ($p > 0,05$). Hasil ini kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan* yang ditampilkan

pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa sumber sinar menyebabkan perbedaan nyata pada kualitas DNA ($\text{\AA}260:\text{\AA}280$) antara sampel K2, P2 dan P3 dengan sampel K1 dan P1,

sedangkan antara sampel K1 dengan P1 tidak berbeda nyata terhadap kualitas DNA ($\text{\AA}260:\text{\AA}280$).

Tabel 2. Hasil analisis statistik rata-rata uji kualitas DNA menggunakan spektrofotometer SimpliNano dengan uji *Univariate* yang dilanjutkan dengan uji *Duncan*

Perlakuan	Lama perlakuan (hari)				Rata-rata kualitas DNA (sumber sinar)
	Segar	0	15	30	
K1	1,48±0,09				1,48a
K2		1,21±0,01			1,21b
P1			1,46±0,04	1,47±0,26	1,46a
P2			1,17±0,02	1,14±0,05	1,16b
P3			1,19±0,06	1,15±0	1,17b
Rata-rata kualitas DNA (lama perlakuan)	1,48a	1,21b	1,28b	1,26b	

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda di belakang angka menunjukkan perbedaan yang nyata antar kolom dan antar baris pada taraf 5% ($p < 0,05$); Angka di belakang tanda (\pm) menunjukkan standar deviasi;

Data uji kualitas DNA menggunakan spektrofotometer SimpliNano perbandingan $\text{\AA}260 : \text{\AA}28$.

(K1) Sampel kelompok kontrol berupa darah segar yang langsung diekstraksi; (K2) Sampel kelompok kontrol berupa bercak darah pada pisau di hari ke-0 (1 jam pengeringan) dan tanpa perlakuan penyinaran;

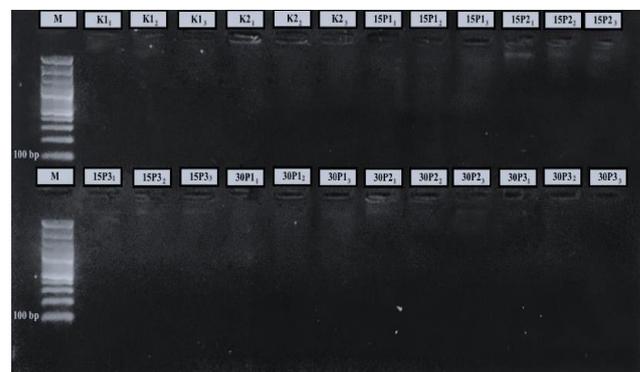
(P1) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak darah pada pisau yang dipaparkan sinar UVA; (P2) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak darah pada pisau yang tidak dipaparkan sinar secara langsung (diletakan di dalam ruangan); (P3) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak darah pada pisau yang dipaparkan sinar matahari

Kualitas DNA ($\text{\AA}260:\text{\AA}280$) pada penelitian ini memiliki nilai berkisar antara 1,091-1,585. Menurut BioChrom (2015) spektrofotometer SimpliNano memiliki standar kemurnian DNA yang baik apabila nilainya $\geq 1,8$ dan $\leq 2,0$. Berdasarkan hal tersebut maka hasil ekstraksi DNA pada penelitian ini tidak baik atau tidak murni. Menurut Siswanto *et al.* (2016) apabila nilai kemurnian DNA kurang dari 1,8 mengindikasikan bahwa hasil ekstraksi DNA tidak murni dengan terkontaminasi oleh protein dan sisa sel debris.

Kualitas DNA Menggunakan Elektroforesis Gel Agarose

Hasil uji kualitas DNA dari 24 sampel menggunakan gel elektroforesis ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil tersebut dapat diamati semua sampel memiliki pendaran pita DNA. Namun, intensitas pendaran pita DNA

yang dihasilkan tipis hingga samar-samar dan memiliki *smear*. Berdasarkan Gambar 1 juga dapat diamati bahwa semakin lamanya perlakuan pada sampel menghasilkan pendaran pita DNA yang semakin redup dan tipis. Selain itu, dapat diamati sampel P1 memiliki kualitas DNA yang lebih baik dari pada sampel P2 dan P3. Hal ini terkonfirmasi dengan pendaran pita DNA dengan *smear* yang lebih terang.



Gambar 1. Hasil uji kualitas DNA menggunakan 1,5% gel *agarose*

(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)

Keterangan : (15 dan 30) Lama perlakuan (hari);

(M) *Marker*; (K1) Sampel kelompok kontrol

berupa darah segar yang langsung diekstraksi;

(K2) Sampel kelompok kontrol berupa bercak

darah pada pisau di hari ke-0 (1 jam

pengeringan) dan tanpa perlakuan penyinaran;

(P1) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak

darah pada pisau yang dipaparkan sinar UVA;

(P2) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak

darah pada pisau yang tidak dipaparkan sinar

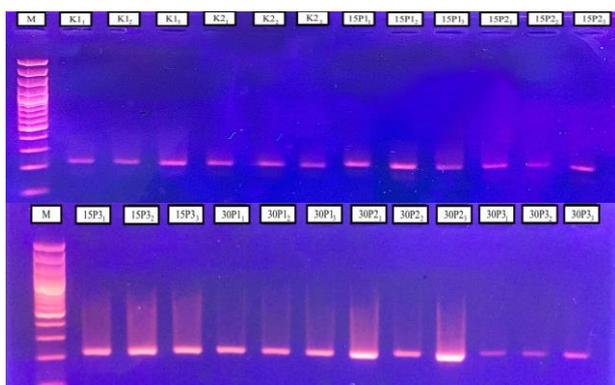
secara langsung (diletakan di dalam ruangan);

(P3) Sampel kelompok perlakuan berupa bercak

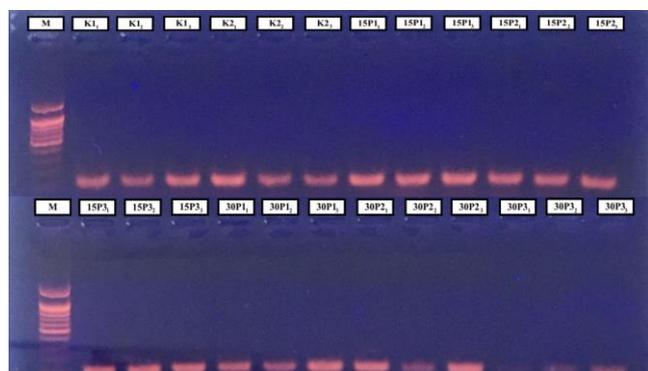
darah pada pisau yang dipaparkan sinar matahari

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) pada penelitian ini menggunakan 3 *primer* yaitu SRY, Amelogenin dan D11S1984. Hasil PCR pada ke-24 sampel ditampilkan pada Gambar 2, 3 dan 4.



Gambar 2. Hasil PCR dengan *primer* SRY
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)



Gambar 3. Hasil PCR dengan *primer* Amelogenin

(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)



Gambar 4. Hasil PCR dengan *primer* D11S1984
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan hasil tersebut semua sampel memiliki pendaran pita DNA. Hal ini mengindikasikan bahwa DNA seluruh sampel masih dapat teramplifikasi. Namun, dapat diamati pada sampel 30P3 memiliki pendaran pita DNA yang paling tipis atau samar-samar dari pada sampel yang lain (Gambar 2, 3 dan 4). Gambar 4 menunjukkan bahwa produk PCR dengan *primer* D11S1984 pada sampel K1-15P2₃ (kiri ke kanan) masing-masing memiliki pendaran pita DNA palsu. Selain itu, pada sampel 30P2₂, 30P2₃, 30P3₂ dan 30P3₃ memiliki pendaran pita DNA yang paling redup dari pada sampel lainnya.

PEMBAHASAN

Kuantitas dan Kualitas DNA

Analisis DNA pada penelitian ini diawali dengan mengekstraksi DNA dari 24 sampel. Proses ini dilanjutkan dengan uji kuantitas dan kualitas DNA menggunakan spektrofotometer SimpliNano dengan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Penggunaan spektrofotometer SimpliNano bertujuan untuk mengetahui akurasi dari hasil ekstrak DNA berupa kemurnian DNA dan konsentrasi DNA (ng/ μ L) (BioChrom, 2015). Berdasarkan Tabel 1 rata-rata konsentrasi DNA pada sampel 15P1 ($218,66 \pm 3,412$ ng/ μ L) dan 15P3 ($204,56 \pm 4,45$ ng/ μ L) seolah-olah lebih tinggi jika dibandingkan dengan K1, K2 dan 15P2 (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara sumber sinar dengan lama perlakuan terhadap rata-rata konsentrasi DNA ($p < 0,05$). Hal ini juga didukung dengan hasil uji kualitas DNA total menggunakan elektroforesis

gel *agarose*, dimana sampel 15P1 dan 15P3 memiliki pendaran pita DNA dengan *smear* yang lebih panjang daripada K1, K2 dan 15P2 (Gambar 1).

Menurut Andreasen and Manktelow (2009) pendaran pita DNA dengan *smear* menandakan bahwa DNA terfragmentasi. DNA yang terfragmentasi menghasilkan molekul DNA dengan panjang basa yang lebih pendek (Fatchiyah *et al.*, 2011). Fragmentasi DNA menyebabkan peningkatan jumlah molekul DNA, hal ini karena alat spektrofotometer SimpliNano membaca konsentrasi DNA berupa jumlah molekul DNA yang ditangkap oleh panjang gelombang 260 nm (BioChrom, 2015) sehingga konsentrasi DNA yang dihasilkan juga meningkat. Hal ini juga ditemui oleh Mikutis *et al.*, (2019), konsentrasi DNA setelah 13 hari paparan sinar matahari mengalami kenaikan yang diikuti dengan ditemukannya panjang basa DNA yang pendek. Sinar UVA yang dipaparkan pada bercak darah menurut Hall *et al.* (2014) juga mampu menyebabkan fragmentasi pada DNA. Hal lain terkait degradasi DNA yang menyebabkan DNA terfragmentasi dilaporkan oleh Jauhani *et al.* (2020) juga terjadi pada sampel bercak darah yang dipaparkan sinar UVC dan tanah. Darlina *et al.* (2018) melaporkan bahwa kerusakan DNA akibat radiasi dapat diketahui dengan uji pencitraan komet, dimana besar dosis radiasi yang dipaparkan berbanding lurus dengan nilai parameter kerusakan DNA.

Mekanisme degradasi DNA oleh sinar matahari terjadi secara sistematis. Menurut Hall *et al.* (2014) sinar matahari yang sampai ke permukaan bumi berupa sinar ultraviolet yaitu UVA dan UVB. Paparan sinar ultraviolet yang dihasilkan oleh matahari menurut Svobodová *et al.* (2003) dan Marionnet *et al.* (2014) merupakan pencetus reaksi fotokimia pada sampel materi biologis secara eksitasi elektron. Eksitasi elektron yang dimaksud ialah pemecahan molekul air yang terkandung dalam materi biologis lalu menghasilkan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* (ROS)). Tahap ini juga dapat disebut bahwa DNA mengalami stress oksidatif dan ROS menghasilkan radikal bebas (Nisha and Deshwal, 2011 dan Nakabeppu, 2014). Pada

kondisi ini DNA menjadi rentan sehingga berikatan dengan radikal bebas (Valanidis *et al.*, 2009). Ikatan ini menghasilkan modifikasi atau kelainan basa DNA sehingga menyebabkan fragmentasi DNA berupa *single strand breaks* (SSB) dan *double strand breaks* (DSB) (Zhuang *et al.*, 2014).

Mekanisme degradasi DNA oleh sinar UVA dilaporkan oleh Ravanat *et al.* (2000) diawali diserapnya energi foton yang dihasilkan oleh sinar UVA. Foton ini diserap melalui sensitizer foto melalui reaksi fotooksidasi. Selanjutnya kondisi ini menginduksi pembentukan *bipirimidine photoproducts* (BPPPs) lalu DNA mengalami lesi oksidatif. Reaksi akhirnya berupa terjadi pemutusan hidrogen antara dua untai DNA sehingga menyebabkan pemutusan untai tunggal (*single strand breaks* (SSB)) atau untai ganda (*double strand breaks* (DSB)) (Grandbois *et al.*, 1999 dan Hall *et al.*, 2014).

Radiasi yang dipaparkan dari sinar UVA dan matahari tidak hanya mengenai bercak darah tetapi juga mengenai pisau yang digunakan dalam penelitian ini. Sinar UVA dan matahari tidak hanya memancarkan cahaya, namun juga memancarkan energi panas. Menurut Jamaluddin (2018) energi panas (termal) ini terbentuk dari energi radiasi yang berinteraksi dengan gelombang elektromagnetik. Adapun pisau yang digunakan pada penelitian ini berbahan *stainless steel*. Bahan logam diketahui memiliki konduktivitas panas yang tinggi (Jamaluddin, 2018) sehingga diduga pisau yang digunakan dapat mempercepat proses degradasi DNA. Bruskov *et al.* (2002) menyebutkan bahwa panas yang dihasilkan radiasi pengion (sinar UV) dapat mendegradasi DNA dengan cara mempercepat hidrolisis pada material biologis yang kemudian menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) sebagai penginduksi radikal bebas. Penelitian Larkin (2015) menunjukkan hasil bahwa konsentrasi DNA bercak darah yang dibuat di atas besi yang dipanaskan dengan suhu tinggi (50°C) lebih sedikit dari pada besi yang dibiarkan di suhu ruang (25°C).

Hasil uji *Duncan* rata-rata konsentrasi DNA pada sampel P2 menunjukkan perbedaan nyata jika dibandingkan dengan sampel K1, K2, P1 dan

P3 (Tabel 1). Sampel 15P2 ($125,70 \pm 2,40$ ng/ μ L) dan 30P2 ($72,63 \pm 16,50$ ng/ μ L) menunjukkan penurunan rata-rata konsentrasi DNA seiring dengan lamanya perlakuan. Hasil ini mengindikasikan bahwa ada interaksi yang terjadi antara sumber sinar dan lama perlakuan terhadap rata-rata konsentrasi DNA ($p < 0,05$). Hal tersebut sejalan dengan Putri dan Junitha (2015) dan Suharta *et al.* (2021), dimana rata-rata konsentrasi DNA semakin menurun dengan semakin lamanya masa simpan. Menurunnya konsentrasi DNA mengindikasikan adanya degradasi DNA. Degradasi DNA ini dapat disebabkan oleh keberadaan mikroorganisme yang menjadikan darah sebagai sumber nutrisinya (Susilo *et al.*, 2020). Adapun kondisi penyimpanan sampel P2 yang tidak dipaparkan matahari secara langsung (dalam ruangan) berpotensi menjadi tempat yang optimal untuk pertumbuhan mikroorganisme. Masyur *et al.* (2019) melaporkan bahwa jamur yang mampu mendegradasi sel darah yaitu *Fusarium sp.*, *Trichoderma harzianum*, *T. viridae*, *Bacillus sp.* dan *Staphylococcus cohnii*. Adapun dengan paparan sinar matahari langsung dan suhu yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan miselium pada jamur (Darnetty, 2006). Hal lainnya dilaporkan oleh Susilo *et al.* (2020) bahwa jenis bakteri yang mampu mendegradasi sel darah pada sampel bercak darah di atas media besi yaitu *Rhizobium radiobacter* dan *Serratia ficaria*. Adapun dengan lama paparan 25 menit dan jarak paparan 5 cm dari sinar UVC diketahui mampu mereduksi jumlah bakteri (Nutrihidayah *et al.*, 2021 dan Cahyonugroho, 2011).

Berdasarkan hasil uji *Duncan* dapat diamati bahwa antar kelompok kontrol (K1 dengan K2) berbeda nyata terhadap rata-rata konsentrasi DNA. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata konsentrasi DNA pada sampel K1 yang lebih tinggi sejumlah $155,40$ ng/ μ L jika dibandingkan dengan sampel K2 sejumlah $135,57$ ng/ μ L. Menurut Mahajan *et al.* (2016), bercak darah yang mengering memiliki material biologis yang terdegradasi dan menyebabkan sedikitnya konsentrasi DNA yang terkandung. Rianti *et al.* (2018) dalam penelitiannya juga mendapatkan bahwa bercak darah pada botol sebagai barang bukti kejahatan memiliki konsentrasi DNA yang

sedikit karena sudah terdegradasi sejumlah $0,07-0,98$ ng/ μ L.

Penurunan rata-rata konsentrasi DNA pada sampel K2 menunjukkan terjadinya degradasi DNA. Menurut Marrone *and* Ballantyne, (2009) hemoglobin pada eritrosit yang terkandung dalam darah kering lebih cepat mendegradasi DNA (gula deoksiribosa dan nukleobasa) secara oksidatif dibandingkan dengan darah segar. Hemoglobin (Hb) berfungsi sebagai pengangkut oksigen dan mengandung besi. Hb yang teroksidasi disebut oxyHb sebagai pemberi warna merah pada darah. OxyHb (Fe^{2+}) ini mudah teroksidasi dengan pengaruh eksternal (udara) sehingga berubah menjadi methemoglobin (metHb) (Fe^{3+}) dan selanjutnya menjadi hemikrom (Fe^{2+}) (Marrone and Ballantyne, 2009). Adapun darah juga mengandung H^+ yang berfungsi sebagai menjaga pH darah agar tetap stabil dan optimal (Sherwood, 2010). Interaksi molekul Hb yang terbentuk dengan H^+ menginduksi pembentukan radikal bebas (OH \cdot) yang dapat mendegradasi DNA secara oksidatif dalam reaksi Fenton (Marrone and Ballantyne, 2009).

Penyebab lainnya dari degradasi DNA pada sampel K1 yaitu penggunaan teknik *swab* dengan *cotton swab steril*. Penelitian Larkin (2015) menunjukkan hasil bahwa konsentrasi DNA pada bercak darah yang dilakukan dengan teknik *swab* lebih kecil dari pada teknik *scrape*. Teknik *swab* pada penelitian ini dilakukan berulang kali hingga bercak darah bersih pada media pisau kemudian terserap pada *cotton swab steril*. Pengulangan *swab* ini diduga menjadi penyebab penurunan integritas sel pada bercak darah sebagai sumber DNA.

Lama perlakuan memberikan hasil rata-rata konsentrasi DNA yang saling berbeda nyata (Tabel 1). Penurunan rata-rata konsentrasi DNA terjadi pada sampel 30P1, 30P2 dan 30P3 secara berturut-turut sejumlah $116,16 \pm 1,84$ ng/ μ L, $72,63 \pm 16,50$ ng/ μ L dan $126,70 \pm 2,76$ ng/ μ L. Pola penurunan ini menunjukkan bahwa lamanya perlakuan mempengaruhi fragmentasi atau degradasi DNA yang terjadi. Suharta *et al.* (2021) menyebutkan bahwa pengaruh masa simpan yang panjang menyebabkan degradasi DNA secara

kronis sehingga menyebabkan penurunan konsentrasi DNA. Sejalan dengan hal ini Putri dan Junitha (2015) melaporkan bahwa lama masa simpan menyebabkan kerusakan sel darah terutama sel darah putih sebagai sumber DNA inti sehingga konsentrasi DNA menurun.

Penurunan rata-rata konsentrasi DNA pada sampel 30P1, 30P2 dan 30P3 terkonfirmasi dengan uji kualitas DNA total menggunakan elektroforesis gel *agarose*. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa sampel 30P1, 30P2 dan 30P3 lebih redup bahkan samar-samar seperti tidak ada pita DNA dari pada sampel K1, K2, 15P1, 15P2 dan 15P3 (Gambar 1). Putri dan Junitha (2015) dan Suharta *et al.* (2021) menyebutkan bahwa sampel dengan masa simpan lebih singkat menghasilkan kualitas DNA yang lebih baik karena dapat meminimalisir proses degradasi DNA.

Berdasarkan uji *Univariate*, sumber sinar menyebabkan perbedaan nyata terhadap kualitas DNA ($\Delta 260:\Delta 280$) ($p < 0,05$). Namun, lama perlakuan dan interaksi antara sumber sinar dan lama perlakuan tidak berbeda nyata terhadap kemurnian DNA ($p > 0,05$). Berdasarkan uji *Duncan* menunjukkan bahwa sampel K1 dan P1 berbeda nyata dengan K2, P2 dan P3 sedangkan sampel K1 tidak berbeda nyata dengan P1 (Tabel 2). Hasil ini terkonfirmasi dengan kualitas DNA total pada sampel P1 yang lebih baik dari pada P2 dan P3. Hal ini dibuktikan pada pendaran pita DNA dengan *smear* pada sampel P1 yang lebih terang dari pada sampel P2 dan P3 (Gambar 1). Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa dengan kondisi penyimpanan sampel P1 yang dipaparkan sinar UVA (dalam box) mampu menjaga kualitas DNA pada sampel bercak darah pada pisau lebih baik dari pada sampel P2 yang tidak dipaparkan sinar matahari langsung (di dalam ruangan) dan sampel P3 yang dipaparkan sinar matahari langsung.

Kondisi penyimpanan sampel P1 diketahui lebih menjaga kualitas DNA dari pada P2 dan P3. Sampel P1 diketahui dipaparkan sinar UVA dalam box tertutup, kondisi ini menjaga bercak darah berhubungan langsung dengan udara luar. Udara bebas mengandung mikroorganisme yang tersebar berupa bakteri, jamur dan mikroalga

(Waluyo, 2009) dan dengan sinar ultraviolet diketahui mampu membunuh spora mikroorganisme (Nerandzic *et al.*, 2012). Kondisi ini dapat meminimalisir kontaminasi bercak darah oleh mikroorganisme yang dapat mendegradasi DNA. Sampel P2 yang diletakkan di dalam ruangan dan tidak terpapar matahari langsung sehingga mendukung pertumbuhan miselium jamur (Darnetty, 2006). Sampel P3 yang dipaparkan sinar matahari langsung dan diletakkan di udara bebas memiliki potensi besar dalam pertumbuhan bakteri yang berasal dari udara bebas (Waluyo, 2009). Susilo *et al.* (2020) melaporkan bahwa bercak darah pada besi mengalami perubahan golongan darah dimulai dari hari ke- 25 hingga hari ke-30. Perubahan golongan darah disebabkan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Enzim ini dapat melisiskan membran eritrosit sehingga mengganggu proses aglutinasi darah. Fenomena ini menyebabkan sisa debris sel eritrosit meningkat yang dapat menjadi kontaminasi pada hasil ekstraksi DNA sehingga mempengaruhi kualitas dari DNA.

Kualitas DNA ($\Delta 260:\Delta 280$) yang diperoleh pada penelitian ini yaitu berkisar antara 1,091-1,585. Spektrofotometer SimpliNano memiliki standar nilai kemurnian DNA yang baik apabila $\geq 1,8$ dan $\leq 2,0$ (BioChrom, 2015) sehingga hasil ekstraksi DNA pada sampel ini tidak baik atau tidak murni. Menurut Siswanto *et al.* (2016) apabila nilai kemurnian DNA kurang dari 1,8 mengindikasikan bahwa hasil ekstraksi DNA tidak murni dengan terkontaminasi oleh protein dan sisa sel debris. Keberadaan senyawa protein dan sisa debris sel disebabkan oleh tidak digunakannya enzim proteinase dalam proses ekstraksi DNA (Brown, 2001). Enzim ini menurut Surzycki (2000) mampu menunjang hasil ekstraksi DNA dari darah dengan cara melisiskan membran sel darah secara optimal, dimana diketahui komposisi darah terdiri dari 45% sel-sel darah dan 55% plasma darah (Campbell *et al.*, 2010).

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Proses PCR dalam penelitian ini bertujuan untuk memastikan bahwa DNA hasil ekstraksi dapat teramplifikasi dan ampikon yang

dihasilkan nantinya dapat dianalisis lebih lanjut. Produk PCR yang dihasilkan kemudian divisualisasikan dengan *UV transilluminator*. Hasil PCR dengan *primer* SRY, Amelogenin dan D11S1984 menunjukkan bahwa seluruh sampel berhasil diamplifikasi dengan terdapatnya pendaran pita DNA. Produk PCR dengan *primer* SRY, Amelogenin dan D11S1984 pada sampel 30P3 memiliki pendaran pita DNA yang paling redup dari pada sampel lainnya (Gambar 4, 5 dan 4). Hasil ini dipengaruhi oleh kuantitas dan kualitas DNA total pada hasil ekstraksi sampel 30P3. Sampel 30P3 diketahui memiliki rata-rata konsentrasi DNA hasil fragmentasi akibat paparan sinar matahari sejumlah $126,70 \pm 2,76$ ng/ μ L (Tabel 1). Selain itu, kualitas DNA total pada sampel 30P3 yang di letakkan di udara bebas juga memiliki pendaran pita DNA yang redup (Gambar 1), hal ini karena degradasi DNA yang terjadi juga dipengaruhi oleh lama perlakuan dan pertumbuhan mikroorganisme.

Produk PCR dengan *primer* D11S1984 pada sampel K1-15P2₂ (kiri ke kanan) masing-masing memiliki pendaran pita DNA palsu (Gambar 4). Hasil ini disebabkan oleh aliran listrik dari elektroda yang tidak merata. Penelitian ini menggunakan *buffer* TBE (*Tris Borat EDTA*) 0,5x bekas untuk proses *running* elektroforesis sehingga diduga efektifitas *buffer* berkurang. Menurut Syukri (1999) larutan *buffer* efektif menahan perubahan konsentrasi ion H⁺ sebanyak 100x konsentrasi semula. Larutan *buffer* berfungsi sebagai *conducting ion* (penghantar arus listrik) (Martin, 1996), ion ini kemudian meningkatkan panas sehingga memaksimalkan aliran listrik (Soedarmadji, 1996). Aliran listrik ini mempengaruhi migrasi molekul DNA dan diketahui DNA yang bermuatan negatif bergerak ke kutub positif (Fatchiyah *et al.*, 2011). Sampel K1-15P2₂ (kiri ke kanan) posisinya jauh dari kutub positif elektroda sehingga dengan aliran listrik yang tidak merata terbentuk pendaran pita DNA palsu.

Produk PCR dengan *primer* D11S1984 pada sampel 30P2₂, 30P2₃, 30P3₂ dan 30P3₃ memiliki pendaran pita DNA yang paling redup dari pada sampel lainnya (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa degradasi dan fragmentasi DNA terjadi

secara acak. Sampel ini diduga memiliki degradasi DNA pada *annealing site* sehingga mengganggu proses penempelan *primer* saat PCR (Yuwono, 2006).

KESIMPULAN

Kuantitas DNA pada sampel yang dipaparkan sinar UVA dan matahari mengalami peningkatan pada hari ke-15 sedangkan sampel yang tidak terpapar sinar matahari langsung mengalami penurunan kuantitas DNA dengan semakin lamanya perlakuan.

Kualitas DNA (Å260:Å280) menghasilkan ekstrak DNA yang tidak murni. Kualitas DNA total dengan elektroforesis gel *agarose* pada semua sampel menunjukkan bahwa semakin lamanya perlakuan (0, 15 dan 30 hari) menghasilkan pita pendaran DNA yang semakin redup dan tipis dengan *smear*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada probandus yang berpartisipasi pada penelitian ini, kepada Kepala Laboratorium Serologi dan Molekuler UPT Forensik Universitas Udayana dan Kepala Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana serta seluruh staf yang telah memberikan izin untuk penggunaan fasilitas di laboratorium dan bantuan selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaeddini, R., S. J. Walsh, and A. Abbas. 2010. Forensic Implications of Genetic Analyses from Degraded DNA. *Forensic Science International: Genetics*. 4(3): 148–157.
- Andreasen, K. and M. Manktelow. 2009. Successful DNA Amplification of a More than 200 Year Old Herbarium Specimen: Recovering Genetic Material from the Linnaean Era. *Taxon*. 58(3): 959–962.
- Badan Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika. 2022. *Terbit Terbenam Matahari*. Available from: https://www.bmkg.go.id/tandawaktu/terbitt_erbenammatahari.bmkg?Tgl=03&Bln=03&Thn=2022&Cari=True

- Badan Pusat Statistik Indonesia. 2020. *Statistik Kriminal 2020*. Jakarta: Badan Pusat Statistik Republik Indonesia.
- BioChrom. 2015. *SimpliNano Product User Manual*. US: Harvard Bioscience Inc.
- Brown, T. A. 2001. *Gene Cloning and DNA Analysis*. UK: Blackwell Science.
- Bruskov, V. I., L. V. Malakhova, Z. K. Masalimov, and A. V. Chernikov. 2002. Heat-Induced Formation of Reactive Oxygen Species and 8-Oxoguanine, A Biomarker of Damage to DNA. *Nucleic Acids Research*. 30(6): 1354–1363.
- Cahyonugroho, O. H. 2011. Pengaruh Intensitas Sinar Ultraviolet dan Pengadukan Terhadap Reduksi Bakteri *E. coli*. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan*. 2(1): 18–23.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, L. A. Urry, M. L. Cain, S. A. Wasserman, P. V. Minorsky, and R. B. Jackson. 2010. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Darlina, T. Rahardjo, dan M. Syaifudin. 2018. Evaluasi Hubungan Dosis Radiasi Terhadap Kerusakan DNA Sel Limfosit dengan Menggunakan Tes Komet. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia*. 19(1): 13–20.
- Darnetty. 2006. *Pengantar Mikologi*. Padang: Andalas Universitas Press.
- Dewinta, A., I. K. Junitha, dan M. Pharmawati. 2022. Ekstraksi DNA dari Sikat Gigi Berdasarkan Lama Pemakaian dan Lama Penyimpanan Setelah Dipakai. *SIMBIOSIS*. 10(1): 14–27.
- Elpia, E. Y., E. Asni, dan M. T. Indrayana. 2016. Kristal Hemoglobin pada Bercak Darah yang Terpapar Beberapa Gel Pembersih Tangan Antiseptik Berbasis Alkohol Menggunakan Tes Teichmann dan Tes Takayama. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Kedokteran*. 3(1): 1–4.
- Fatchiyah, A., L. E. Widyarti, dan S. Rahayu. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*, Jakarta: Erlangga.
- Fattorini, P., R. Ciofuli, F. Cossutta, P. Giulianini, P. Edomi, M. Furlanut, and C. Previdere. 1999. Fidelity of Polymerase Chain Reaction – Direct Sequencing Analysis of Damaged Forensic Samples. *Electrophoresis*. 20(17): 3349–3357.
- Grandbois, M., M. K. Beyer, M. Rief, H. Clausen-Schumann, and H. O. Gaub. 1999. How Strong is Hydrogen Bond?. *Science*. 283(5408): 1727–1730.
- Hall, A., L. M. Sims, and J. Ballantyne. 2014. Assessment of DNA Damage Induced By Terrestrial UV Irradiation of Dried Bloodstains: Forensic Implications. *Forensic Science International: Genetics*. 8(1): 24–32.
- Jamaluddin, P. 2018. *Perpindahan Panas dan Massa Pada Penyangaian dan Penggorengan Bahan Pangan*. Malang: Badan Penerbit UNM.
- Jauhani, M. A., S. Rachmania, dan A. Yudianto. 2020. Kualitas dan Kuantitas DNA pada Bercak Darah Pascapaparan Tanah Dan Ultraviolet-C. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 6(3): 181–184.
- Langi, J. M. 2016. Tindak Pidana Oleh Anak Membawa Senjata Tajam Sebagaimana dimaksud dalam Undang-Undang No. 12/DRT/1951. *Lex Crimen*. 5(5): 127–128.
- Larkin, B. A. J. 2015. *Bloodstain Pattern Analysis : Scratching The Surface (Thesis)*. Manchester Metropolitan University: School of Science and Environment.
- Mahajan, K. P., V. B. Parulekar, S. H. Lade, and M. K. Malave. 2016. *Crime Scene Forensic Evidence As Trace DNA Profiling Solves The Case : In Next Generation DNA Led Technologies*. India: Forensic and Medical Bioinformatics.
- Marionnet, C., C. Pierrard, C. Golebiewski, and F. Bernerd. 2014. Diversity of Biological Effects Induced by Longwave UVA Rays (UVA1) in Reconstructed Skin. *Plos One*. 9(8): 1–3.
- Marrone, A. and J. Ballantyne. 2009. Changes in Dry State Hemoglobin Over Time Do Not Increase The Potential for Oxidative DNA Damage in Dried Blood, *Plos One*, 4(4): 1–8.
- Martin, R. 1996. *Gel Electrophoresis : Nucleic Acids*, UK: Garland Science.

- Masyur, M., I. K. Junitha dan M. W. Proborini. 2019. Perubahan Golongan Darah Berdasarkan Pengaruh Waktu dan Mikroorganisme yang Berperan. *Metamorfosa: Journal of Biological Science*. 6(2): 165–174.
- Mikutis, G., L. Schmid, W. J. Stark, R. N. and Grass. 2019. Length-Dependent DNA Degradation Kinetic Model: Decay Compensation in DNA Tracer Concentration Measurements. *AICHE Journal*. 65(1): 40–48.
- Nakabeppu, Y. 2014. Cellular Levels of 8-Oxoguanine in either DNA or the Nucleotide Pool Play Pivotal Roles in Carcinogenesis and Survival of Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(7): 12543–12544.
- National Institute of Justice. 2013. *Understanding DNA Evidence: A Guide For Victim Service Providers*. Washington: Office of Justice Programs National Institute of Justice.
- Nerandzic, M. M., J. L. Cadnum, K. E. Eckart, and C. J. Donskey. 2012. Evaluation of Hand Held Far UV Radiation Device for Decontamination of *Clostridium difficile* and other Healthcare Associated Pathogens. *BMC Infectious Diseases*. 12(1): 1–6.
- Nisha, K. and R. K. Deshwal. 2011. Antioxidants and Theirs Protective Action Against DNA Demage. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 3(4): 28–30.
- Notosoehardjo, I. 2003. *Perkembangan Ilmu Kedokteran Kehakiman Menuju Ilmu Kedokteran Forensik*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Nutrihidayah, R. J., R. Kawuri, and I. Narayani. 2021. Eliminasi Bakteri *Escherichia coli* O157: H7 dan *Escherichia coli* O157 Pada Daging Sapi Menggunakan Sinar Ultraviolet. *SIMBIOSIS*. 9(1): 22–30.
- Peraturan Menteri Kesehatan RI. 2015. *Standar Pelayanan Transfusi Darah*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Putri, N. P. P. E. dan I. K. Junitha. 2015. Kualitas dan Kuantitas DNA Darah Kering Pada Besi dan Kayu yang Disimpan dalam Kurun Waktu Berbeda. *Jurnal Biologi*. 19(1): 21–24.
- Rahi, G. S., J. L. Adams, J. Yuan, D.-J.-N. Devone, and K. M. Lodhi. 2021. Whole Human Blood DNA Degradation Associated with Artificial Ultraviolet and Solar Radiations As A Function of Exposure Time. *Forensic Science International*. 319: 1–3.
- Ravanat, J. L., P. D. Mascio, G. R. Martinez, M. H. Medeiros, and J. Cadet. 2000. Singlet oxygen Induces Oxidation of Cellular DNA. *Journal of Biological Chemistry*. 275(51): 40601–40604.
- Rianti, P., E. Cristin, and P. T. Widodo. 2018. Profil DNA Forensik pada Barang Bukti Dua Kasus Pembunuhan di Indonesia. *Jurnal Sumberdaya HAYATI*. 8(2): 48–56.
- Sherwood, L. 2010. *Human Physiology: From Cells to System*. Belmont: Brooks-Cole.
- Siswanto, J. E., T. Berlian, E. Putricahya, L. V. Panggalo, and L. Yunani. 2016. Isolasi DNA pada Sampel Darah Tepi dan Swab Buccal pada Bayi Penderita ROP: Perbandingan Hasil Uji Konsentrasi dan Indeks Kemurnian. *Sari Pediatri*. 18(4): 270–276.
- Soedarmadji, S. 1996. *Teknik Analisa Biokimiawi*. Yogyakarta: Liberty.
- Suharta, I. G. Y., I. K. Junitha, dan A. A. S. A. Sukmaningsih. 2021. DNA Hasil Ekstraksi dari Bercak Sperma pada Kain Katun dan Poliester yang Disimpan Hingga 40 Hari. *SIMBIOSIS*. 9(2): 94–104.
- Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Heidelberg: Springer Berlin.
- Susilo, B., I. K. Junitha, dan Y. Ramona. 2020. Perubahan Golongan Darah dan Identifikasi Bakteri yang Berperan dalam Merubah Golongan Darah. *Jurnal Metamorfosa*. 7(1): 96–102.
- Svobodová, A., J. Psotová, and D. Walterová. 2003. Natural Phenolic in The Prevention of UV-Induced Skin Damage. *Biomed Papers*. 147(2): 136–145.
- Syukri, S. 1999. *Kimia Dasar 2*. Bandung: ITB.

- Taylor, J. and J. A. Kieser. 2016. *Forensic Odontology: Principles and Practice*. London: Wiley Blackwell.
- Valanidis, A., T. Vlachogianni, and C. Fiotakis. 2009. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health Part C*. 27:120–123.
- Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press.
- Willard, J. M., D. A. Lee, and M. M. Holland. 1998. Recovery of DNA For PCR Amplification from Blood and Forensic Samples Using A Chelating Resin. *Methods in Molecular Biology*. 98: 9–18.
- Yosephin, B., A. Khomsan, D. Briawan, dan R. Rimbawan. 2014. Peranan Ultraviolet B Sinar Matahari terhadap Status Vitamin D dan Tekanan Darah pada Wanita Usia Subur. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 8(6): 256.
- Yudianto, A. 2013. *Panduan Praktis Serologi Forensik*. Surabaya: Global Persada Press.
- Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: ANDI.
- Zhuang, T., H. Han, and Z. Yang. 2014. Iron, Oxidative Stress and Gestational Diabetes. *Nutrients*. 6(9): 3971–3972.