

ARTIKEL PENELITIAN

Analisis genetik lokus CSF1PO, TH01, dan TPOX *short tandem repeats* pada etnis minangkabau

Taufik Hidayat, Rika Susanti

Bagian Ilmu Kedokteran Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas

Korespondensi: Taufik Hidayat, email: taufikspf2017@gmail.com

Abstrak

Identifikasi forensik terus mengalami kemajuan yang pesat sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran. **Tujuan:** Untuk mengetahui frekuensi alel-alel dan membuat data dasar alel-alel lokus CSF1PO, TH01 dan TPOX *Short Tandem Repeats* pada etnis Minangkabau. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan sampel 30 orang coba beretnis Minangkabau, sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Dilakukan isolasi DNA lokus CSF1PO, TH01 dan TPOX dan dilakukan *sequencing* dengan *kit experion DNA 1 K*. Alel yang didapat dianalisis dengan *software EasyDNA*. **Hasil:** Didapatkan frekuensi alel lokus CSF1PO yaitu 16 alel, lokus TH01 sebanyak 12 alel, dan lokus TPOX yaitu 10 alel. Frekuensi alel tertinggi CSF1PO yaitu 165 bp (0,0167) dan alel 170 bp (0,0167). Frekuensi alel tertinggi lokus TH01 yaitu 93 bp (0,217). Frekuensi alel TPOX tertinggi adalah 85 bp (0,267) Nilai *heterozigositas* observasi tertinggi terdapat pada lokus TPOX (0,4) diikuti oleh lokus TH01 (0,33) dan lokus CSF1PO (0,2). Nilai *power of discrimination* tertinggi terdapat pada lokus CSF1PO (0,98), TH01 (0,973) dan TPOX (0,949). **Simpulan:** didapatkan data frekuensi alel lokus CSF1PO, TH01, dan TPOX etnis Minangkabau. Lokus CSF1PO, TH01 dan TPOX dapat digunakan sebagai pembandingan dalam identifikasi forensik.

Kata kunci: identifikasi; frekuensi alel; *heterozigositas*; *power of discrimination*

Abstract

Forensic identification continues to progress rapidly in accordance with the development of medical science and technology. Objectives: This study aims were to determine the alleles frequency and to establish alleles database of locus CSF1PO, TH01 and TPOX Short Tandem Repeats on Minangkabau ethnic. **Methods:** This research was a descriptive research with sample of 30 Minangkabau ethnic group, who meet the inclusion and exclusion criteria. DNA isolation was performed on CSF1PO, TH01 and TPOX loci and sequencing with *experion DNA kit 1 K*. **Results:** The alleles obtained were analyzed with *EasyDNA* software. The allele frequency of CSF1PO locus were 16 alleles, locus TH01 were 12 alleles, and TPOX locus were 10 alleles. The highest allele frequency of CSF1PO were 165 bp (0.0167) and 170 bp (0.0167). The highest allele frequency of TH01 was 93 bp (0.217). The highest allele frequency of TPOX was 85 bp (0.267) The highest of observed heterozygosity was in TPOX (0.4) followed by TH01 (0.33) and CSF1PO (0.2). The highest power of discrimination values are in the CSF1PO locus (0.98), TH01 (0.973) and TPOX (0.949). **Conclusions:** was obtained frequency data allele locus CSF1PO, TH01 and TPOX ethnic Minangkabau. The focus of CSF1PO, TH01 and TPOX can be used as a comparison in forensic identification

Keywords: *identification; allele frequency; observed heterozygosity; power of discrimination*

PENDAHULUAN

Selain untuk identifikasi korban bencana alam dan kecelakaan massal, proses identifikasi juga diperlukan untuk memecahkan kasus sipil, kriminal dan terorisme. Pertambahan populasi umat manusia membuat keperluan identifikasi menjadi sangat penting, terutama dalam memecahkan kasus-kasus sengketa keayahan, sengketa kekerabatan, keimigrasian, dan lain sebagainya. Pada ranah kriminal seperti kejahatan seksual, bayi yang tertukar di rumah sakit, perdagangan anak, perampokan dan terorisme, proses identifikasi korban dan atau pelaku sangat diperlukan.^{1,2}

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran, ilmu kedokteran forensik telah mengembangkan metode identifikasi yang berdasarkan metode ilmiah kedokteran seperti tanda-tanda khas dari golongan darah, sidik jari, odontologi, antropologi dan DNA. Kemajuan dibidang genetika molekuler melalui teknologi *DNA typing* sangat membantu proses identifikasi terutama jika sampel dalam jumlah yang sedikit, terkontaminasi dan terdegradasi. Analisis STR (*Short Tandem Repeats*) merupakan jenis pemeriksaan DNA saat ini dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.^{2,3}

STR merupakan pengulangan *tetranukleotida* 2-7 bp pada daerah 200-1000 bp sehingga sangat unggul dalam membedakan individu. Untuk aplikasi forensik diperlukan data populasi dari

suatu profil DNA tertentu. Apabila dari sampel barang bukti biologis diteliti profil DNA-nya, dan ternyata cocok dengan korban atau pelaku maka dapat dilakukan uji eksklusi profil DNA barang bukti biologis dari seluruh individu dalam populasi secara statistik. Uji tersebut menggunakan lokus-lokus STR. Untuk itu diperlukan data tentang frekuensi alel lokus STR dalam suatu populasi atau etnik penduduk tertentu terutama di Indonesia.⁴⁻⁶

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui frekuensi alel-alel dan membuat data dasar alel-alel lokus CSF1PO, THO1 dan TPOX *Short Tandem Repeats* pada etnis Minangkabau.

METODE

Rancangan penelitian menggunakan desain deskriptif. Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik dan Bagian Ilmu Kedokteran Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas periode Agustus sampai November 2017. Subyek penelitian ini adalah 30 sampel DNA naracoba. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sukarelawan laki-laki dan perempuan, etnis Minangkabau, sehat, berusia di atas 18 tahun serta menandatangani *informed consent* (bersedia diperiksa). Kriteria eksklusi adalah orang coba yang memiliki hubungan darah dan membatalkan keikutsertaan mengikuti penelitian oleh karena berbagai sebab. Kelayakan etik penelitian didapat dari komite etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

DNA genomik diisolasi dari sampel berupa darah menggunakan *PureLink® Genomics DNA Kits, Invitrogen*. Isolasi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur kit yang secara garis besar terdiri atas tahap lisis sel, tahap pengikatan DNA, tahap pencucian, dan tahap elusi DNA. Untuk menganalisis hasil isolasi DNA, sebanyak 5µl DNA genomik hasil isolasi dicampurkan dengan 1µl *loading dye* (6x), kemudian dielektroforesis menggunakan gel *agarose* 1,5% yang telah diberi pewarna DNA berupa *GelRed*, dengan voltase 100V selama 30 menit. Gel *agarose* kemudian diamati di bawah sinar UV menggunakan *GelDoc*. PCR masing-masing STR CSF1PO, THO1, dan TPOX dilakukan menggunakan primer CSFP01, THO1 dan TPOX menurut penelitian Baloglu dan Yigit (2011), F-CSF1PO 5'-AGATATTAACAGTAACTGCCTTCA-3', r-CSF1PO 5'-CAGATACTATCTCCTGGTGCA-3'. F-THO1 5'-CATTGGCCTGTTCCCTTA-3, r-THO1 5'-GCAGGTCACAGGGAACACAGA-3. F-TPOX 5'-AGAACAGGCACTTAGGGAA-3', r-TPOX 5'-AGCGTTTATTTGCCCAA-3'.⁷ Komposisi PCR untuk amplifikasi STR CSF1PO, THO1, dan TPOX pada sampel adalah sama yaitu, dilakukan menggunakan reagen *Go Taq Green Master Mix* dari *Promega*. Volume total reaksi adalah 15µl, yang terdiri dari 7,5µl *Go Taq Green Master Mix*; 2µl *DNA genomic* (sampel); 0,5µl *primer Forward* CSF1PO, THO1, dan TPOX (10µM); 0,5µl *primer Reverse* CSF1PO, THO1, dan TPOX (10µM); dan 4,5µl ddH₂O.

Amplifikasi STR CSF1PO, THO1, dan TPOX dilakukan dengan kondisi PCR yang sama,

yaitu: denaturasi awal pada suhu 95°C selama 3 menit, kemudian diikuti oleh siklus 35 siklus berulang, denaturasi lanjut pada 95°C selama 30 detik, *annealing* (penempelan primer) pada suhu 59°C selama 20 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 30 detik, proses PCR diakhiri dengan tahap elongasi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. (kecuali untuk STR TPOX, suhu *annealing* adalah 53°C).

Produk hasil amplifikasi PCR STR lokus CSF1PO, THO1, dan TPOX diamati dengan elektroforesis menggunakan gel *agarose* 1,5% yang telah diberi pewarna DNA *GelRed*. Sebanyak 5µl produk PCR dielektroforesis dengan voltase 100V selama 60 menit, kemudian gel *agarose* diamati di bawah sinar UV menggunakan *GelDoc*. Selanjutnya dilakukan *sekuensing* DNA dari lokus CSF1PO, THO1, dan TPOX menggunakan *experion DNA 1 K Analysis Kit* sesuai protokol *Bio-Rad*.

Instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah SPSS 20 untuk mengolah data karakteristik subyek penelitian dan *software EasyDNA*⁸ yang sesuai untuk data populasi dan selanjutnya didapatkan frekuensi alel, *heterozigositas* observasi dan *power of discrimination* (PD) dari lokus CSF1PO, THO1, dan TPOX.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tabel 1 didapatkan hasil bahwa karakteristik dari subyek penelitian adalah subyek berasal dari etnis Minangkabau asli, usia dewasa muda. Sebesar 33,3% subyek berjenis kelamin laki-laki, dan

perempuan 66,7%. Pendidikan subyek 70% adalah mahasiswa.

Berdasarkan tabel 2 didapatkan bahwa pada penelitian ini lokus CSFP01 terdapat pengulangan AGAT sebanyak 13 kali (165 bp), untuk lokus TH01 dengan pengulangan

TCAT sebanyak 7 kali (87 bp) dan untuk lokus TPOX dengan pengulangan AATG sebanyak 8 kali (78 bp). Frekuensi alel pada sampel etnis Minangkabau dengan menggunakan tiga lokus dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Karakteristik dasar subjek

Data	Klasifikasi	Jumlah (n)	Persentase (%)
Jenis kelamin	Laki-laki	10	33,3
	Perempuan	20	66,7
	Total	30	100,0
Umur	21-30	24	80,0
	31-40	4	13,3
	41-50	2	6,7
	Total	30	100,0
Pendidikan	Tamat SLTA	9	30,0
	Perguruan Tinggi	21	70,0
	Total	30	100,0

Tabel 2. Frekuensi alel lokus CSF1PO, TH01, dan TPOX

Lokus	Alel	Frekuensi	Alel	Frekuensi	
CSF1PO	156 bp	0,017	94 bp	0,083	
	158 bp	0,017	95 bp	0,05	
	159 bp	0,017	96 bp	0,017	
	160 bp	0,033	98 bp	0,15	
	161 bp	0,05	99 bp	0,1	
	162 bp	0,05	101 bp	0,117	
	163 bp	0,067	104 bp	0,017	
	165 bp	0,167	TPOX	81 bp	0,017
	166 bp	0,033		83 bp	0,067
	167 bp	0,05		84 bp	0,25
	168 bp	0,117		85 bp	0,267
	169 bp	0,133		87 bp	0,033
	170 bp	0,167		88 bp	0,017
	171 bp	0,033		91 bp	0,067
	172 bp	0,033		92 bp	0,1
TH01	175 bp	0,017	93 bp	0,133	
	89 bp	0,017	94 bp	0,05	
	90 bp	0,083			
	91 bp	0,1			
	92 bp	0,05			
	93 bp	0,217			

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan nilai *heterozigositas* observasi tertinggi terdapat pada lokus TPOX diikuti oleh lokus TH01 dan lokus CSF1PO. Hasil amplifikasi ke tiga lokus (CSF1PO, TH01, dan TPOX) pada

sampel etnis Minangkabau didapatkan 38 alel. Ragam alel paling banyak dihasilkan oleh lokus CSF1PO yaitu 16 alel, kemudian lokus TH01 sebanyak 12 alel, sedangkan ragam alel paling sedikit dihasilkan oleh lokus TPOX yaitu 10 alel. Lokus CSF1PO menghasilkan 16 ragam alel, dengan alel terpendek 156 bp dan terpanjang 170 bp. Frekuensi tertinggi terdapat pada alel 165 bp (0,0167) dan alel 170 bp (0,0167) dan terendah pada alel 156 bp (0,017), 158 bp (0,017), 158 bp (0,017) dan 175 bp (0,017). Hasil amplifikasi pada lokus TH01 diperoleh 12 ragam alel, dengan alel terpendek 89 bp dan alel terpanjang 104 bp. Frekuensi tertinggi terdapat pada alel 93 bp (0,217) dan terendah terdapat pada alel 89 bp (0,017), 96 bp (0,017) dan alel 104 bp (0,017). Hasil amplifikasi pada lokus TPOX diperoleh 10 ragam alel, alel terpendek 81 bp dan alel terpanjang 94 bp dengan frekuensi tertinggi terdapat pada alel 85 bp (0,267) dan terendah pada alel 81 bp (0,017) dan alel 88 bp (0,017).

Tabel 3. Nilai *heterozigositas* observasi dan *Power of Discrimination* 3 STR

Lokus	<i>Heterozigositas</i> (<i>h</i>)	<i>Power of Discrimination</i> (<i>PD</i>)
CSF1PO	0,2	0,98
TH01	0,333	0,973
TPOX	0,4	0,949

Alel pada lokus CSF1PO etnis Minangkabau yang memiliki frekuensi tertinggi yaitu alel 165 bp dan alel 175 bp, oleh karena itu alel 165 bp dan 175 bp diduga merupakan alel *founding father* lokus CSF1PO dari etnis Minangkabau. Alel pada lokus TH01 etnis Minangkabau yang memiliki frekuensi

tertinggi adalah alel 93 bp (0,217). Alel pada lokus TPOX etnis Minangkabau yang memiliki frekuensi tertinggi adalah alel 85 bp (0,267). Alel *founding father* akan mengalami mutasi, sehingga terbentuk alel yang lebih panjang atau lebih pendek dengan frekuensi yang lebih rendah. Perubahan ragam alel dapat terjadi akibat adanya perkawinan.

Nilai frekuensi yang tinggi menunjukkan bahwa alel merupakan alel yang umum pada etnis Minangkabau. Frekuensi yang terlalu tinggi dalam satu lokus, menyebabkan penurunan nilai keragaman genetik dan PD. Nilai PD tertinggi terdapat pada lokus CSF1PO diikuti lokus TH01 dan TPOX. Nilai *heterozigositas* observasi dan PD dipengaruhi oleh ragam alel dan frekuensinya. Semakin banyak ragam alel yang ditemukan, maka semakin tinggi nilai *heterozigositas* observasi dan PD pada lokus tersebut. Semakin tinggi nilai *heterozigositas* observasi dan PD yang dihasilkan, maka lokus tersebut semakin baik digunakan dalam analisis DNA untuk keperluan forensik. Pada penelitian ini didapatkan nilai *heterozigositas* observasi tidak sebanding dengan PD.

Hasil penelitian analisis genetik pada etnis Minangkabau dengan penanda tiga lokus DNA *mikrosatelit* menunjukkan bahwa dari 3 lokus tersebut baik digunakan dalam analisis DNA untuk kepentingan forensik karena memberikan ragam alel lebih banyak sehingga PD-nya tinggi, namun *heterozigositas* observasi dari lokus ketiga lokus yang diperiksa rendah karena banyak alel homozigot. Semakin besar nilai

pembeda maka semakin kecil peluang ditemukan dua orang yang tidak berhubungan keluarga memiliki genetik yang sama, sehingga semakin kecil kemungkinan orang yang tidak bersalah mendapat hukuman atas perbuatan yang tidak pernah dilakukannya.

Ragam frekuensi alel, *heterozigositas* observasi dan PD yang berbeda pada lokus CSF1PO, TH01 dan TPOX ditemukan pada penelitian Untoro dkk (2009) pada populasi Indonesia,⁹ Ozeki dan Tamaki (2013) pada populasi Jepang¹⁰ dan Rodriguez dkk (2015) dengan sampel orang Filipina¹¹. Pada penelitian Untoro dkk (2009) dengan sampel Indonesia didapatkan data heterozigot observasi (ho) untuk lokus CSF1PO adalah 0,687 dengan PD adalah 0,868.⁹ Ho lokus TH01 adalah 0,735 dengan PD adalah 0,904.⁹ Ho lokus TPOX adalah 0,558 dengan PD adalah 0,7693.⁹ Pada penelitian oleh Zhang (2011) dengan sampel *Chinese*¹², Toscanini (2003) dengan sampel Argentina¹³ juga didapatkan perbedaan nilai parameter forensik lokus-lokus STR. Masih banyak penelitian lain terkait analisis genetika populasi terhadap lokus-lokus STR dari berbagai etnis/populasi di dunia. Perbedaan tersebut terjadi karena dipengaruhi oleh jumlah dan wilayah (etnis) dalam pengambilan sampel. Sampel etnis Minangkabau hanya 30 orang dan berada pada satu wilayah yang sempit. Perbedaan ukuran alel tersebut dapat disebabkan oleh adanya variasi antar ras yang terkait

dengan cikal bakal pembentuk populasi (*founding father*). Variasi yang terjadi antar populasi juga terjadi akibat adanya mutasi DNA *mikrosatelit*.

SIMPULAN

Data mengenai frekuensi alel-alel dan data dasar tentang lokus CSF1PO, TH01 dan TPOX untuk populasi etnis Minangkabau di kota Padang telah berhasil didapatkan. Hasil penelitian analisis genetik pada etnis Minangkabau dengan penanda tiga lokus DNA *mikrosatelit* menunjukkan bahwa dari 3 lokus tersebut baik digunakan dalam analisis DNA untuk kepentingan forensik karena memberikan ragam alel lebih banyak. Saran pada penelitian berikutnya untuk mendapatkan hasil dengan tingkat ketelitian yang lebih tinggi perlu jumlah sampel yang lebih besar. Dalam aplikasinya untuk lebih memperkuat hasil uji statistik dalam proses identifikasi, perlu mengombinasi *database* ini dengan beberapa *database* lokus lain.

DUKUNGAN FINANSIAL

Dana penelitian didapatkan dari dana PNBK Fakultas Kedokteran Universitas Andalas tahun 2017.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih untuk laboran Laboratorium Biomedik dan dokter muda Forensik periode September 2017 Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Purwanti SH. Dari Bom Bali hingga Tragedi Sukhoi. Jakarta: Rayyana Komunikasindo; 2013.
2. Syukriani Y. DNA Forensik. Jakarta: Sagung Seto; 2012.
3. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. An Introduction to Forensic Genetics. West Sussex: John Wiley&Sons Ltd; 2007.
4. Butler JM, Becker CH. Improved Analysis of DNA Short Tandem Repeats with Time-Of-Flight Mass Spectrometry (Science and Technology Research Report). Washington DC: US Department of Justice Office of Justice Program; 2001.
5. Butler JM. Forensic DNA Typing. 2nd edition. New York: Elsevier Academy Press; 2005.
6. Rapley R, Whitehouse D. Basic Tools and Techniques in Molecular Biology: Molecular Forensic. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd; 2007. P.20-34.
7. Baloglu H, Yigit N. A New Remedy in Pathology Practice: Molecular Solution to Sample Mix-Up. Turk Patoloji Derg. 2011; 27(2):106-109. doi: [10.5146/tjpath.2011.01057](https://doi.org/10.5146/tjpath.2011.01057).
8. Fung WK, Yang CT, Guo W. EasyDNA: user-friendly paternity and kinship testing program. International Congress Series. 2004; 1261:628-630. doi: [10.1016/S0531-5131\(03\)01486-9](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(03)01486-9).
9. Untoro E, Atmadja DS, Pu CE, Wu FC. Allele frequency of CODIS 13 in Indonesian population. Leg Med. 2009; 11(Supp.1):S203-205. doi: [10.1016/j.legalmed.2009.01.007](https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2009.01.007).
10. Ozeki M, Tamaki K. Allele frequencies of 37 short tandem repeat loci in a Japanese population. Leg Med. 2013; 15(6):342-6. doi: [10.1016/j.legalmed.2013.08.006](https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2013.08.006).
11. Rodriguez JJ, Salvador JM, Calacal GC, Laude RP, De Ungria MC. Allele frequencies of 23 autosomal short tandem repeat loci in the Philippine population. Leg Med. 2015; 17(4):295-7. doi: [10.1016/j.legalmed.2015.02.005](https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2015.02.005).
12. Zhang Y. Population Genetics for 15 STR loci of Liaoning Han in Northeastern China. J Forensic Res. 2011; 2:123. doi: [10.4172/2157-7145.1000123](https://doi.org/10.4172/2157-7145.1000123).
13. Toscanini U, Berardi G, Haas E, Raimondi E. Data analysis of 10 STR loci in a population in the province of Neuquen, Argentina. International Congress Series. 2003; 1239:239-242. doi: [10.1016/S0531-5131\(02\)00583-6](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(02)00583-6).