

Degradasi DNA pada Jenazah yang Sudah Sangat Membusuk

DNA degradation in highly decomposed corpses

Taufik Suryadi

*Bagian/ SMF Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal
Fakultas Kedokteran Unsyiah/ RSUDZA Banda Aceh
Email: abiforensa@yahoo.com*

Alamat Korespondensi:

Jl. Teuku Tanoh Abee,
Kopelma Darussalam,
Syiah Kuala, Kota Banda
Aceh, Aceh 24415

ABSTRAK.

Pembusukan adalah proses degradasi jaringan pada tubuh jenazah yang terjadi sebagai akibat proses autolisis dan aktivitas mikroorganisme. Pada jenazah yang sudah sangat membusuk, DNA dapat mengalami degradasi sehingga apabila dilakukan analisis DNA pada saat elektroforesis, pita-pita DNA terputus. Proses degradasi DNA pada jenazah yang sudah sangat membusuk terjadi karena adanya faktor endogen maupun eksogen. Degradasi DNA menyulitkan upaya identifikasi jenazah karena hasilnya menjadi kurang akurat.

Kata kunci: Pembusukan jenazah, degradasi DNA, identifikasi

Corresponding Author:

Jl. Teuku Tanoh Abee,
Kopelma Darussalam,
Syiah Kuala, Kota Banda
Aceh, Aceh 24415

ABSTRACT.

Decomposition is a process of tissue degradation in corpses body that occurs as a result of the process of autolysis and microorganisms activity. In decomposed corpses body, the DNA degraded, so that when the DNA analysis in electrophoresis is done, the DNA types are broken. The process of DNA degradation in the highly decomposed corpses, is cause by the existence of endogenous and exogenous factors. The DNA degradation makes it difficult to identify corpses body because the results are less accurate.

Keywords: Decomposed corpses, DNA degradation, identification

PENDAHULUAN

Kematian merupakan suatu kejadian yang pasti dialami oleh setiap makhluk hidup termasuk manusia. Dalam dunia kedokteran forensik dikenal bahwa kematian dapat berlangsung secara alami (*natural*) maupun tidak alami (*unnatural*).¹ Identifikasi jenazah dalam bidang forensik sangat umum dilakukan baik pada kematian secara alami dan kematian secara tidak alami.² Identifikasi jenazah tidak dikenal menarik untuk dikaji, terutama bila menyangkut persoalan yang berhubungan dengan hukum seperti persoalan warisan, keturunan (*paternitas*), atau jenazah yang diduga merupakan korban pada tindakan kriminal.³ Identifikasi jenazah juga sering dilakukan pada bencana massal yang merupakan upaya untuk bisa merawat, mendoakan serta akhirnya menyerahkan jenazah kepada keluarganya.⁴

Jenazah akan membusuk awal setelah 24-36 jam sampai pembusukan lanjut beberapa hari pasca kematian.² Dalam mengenali jenazah, dokter melakukan identifikasi melalui beberapa metode yaitu visual, antropologi, properti maupun identifikasi melalui sidik jari, *dental records* dan analisis *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dengan prinsip identifikasi membandingkan data antemortem dengan postmortem.^{1,2,3}

Identifikasi jenazah harus dilakukan sesegera mungkin karena semakin lama jenazah terpapar dengan udara maka proses pembusukan juga akan berlangsung dengan cepat sehingga akan menyebabkan terbatasnya upaya pemeriksaan identifikasi,³ untuk itu pemeriksaan harus dilakukan secara cepat, cermat dan akurat. Dalam melakukan proses identifikasi jenazah yang telah mengalami pembusukan, beberapa metode seperti metode visual, sidik jari dan metode konvensional tidak dapat digunakan karena sulit sekali menilainya, sehingga diperlukan metode modern analisis biomolekuler DNA yang merupakan metode yang cepat dan tepat untuk digunakan serta akurat.³ Dibandingkan dengan cara-cara konvensional yang mengandalkan teknologi serologi, maka teknologi DNA memiliki keunggulan yang sangat mencolok, utamanya dalam potensi spesifisitas dan sensitifitasnya.^{1,3,4}

PEMBUSUKAN JENAZAH

Pembusukan adalah proses degradasi jaringan pada tubuh jenazah yang terjadi sebagai akibat proses autolisis dan aktivitas mikroorganisme.^{2,4} Autolisis adalah perlunakan dan pencairan jaringan yang terjadi dalam keadaan steril melalui proses kimia yang disebabkan oleh enzim intraseluler, sehingga organ-organ yang kaya dengan enzim-enzim akan mengalami proses autolisis lebih cepat daripada organ-organ yang tidak memiliki enzim.⁵

Beberapa mikroorganisme yang berperan dalam pembusukan adalah bakteri anaerob yang berasal dari traktus gastrointestinal yaitu *Basil Coliformis* dan *Clostridium Welchii* sebagai penyebab utama, sedangkan bakteri yang lain seperti *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *B. Proteus*, dan jamur tidak begitu dominan menyebabkan pembusukan.^{2,5} Setelah seseorang meninggal, maka semua sistem pertahanan tubuh akan hilang, bakteri yang secara normal dihambat oleh jaringan tubuh akan segera masuk ke jaringan tubuh melalui pembuluh darah, seperti diketahui darah merupakan media yang terbaik bagi bakteri untuk berkembang biak.^{3,5}

Tanda pertama pembusukan baru dapat dilihat kira-kira 24 jam - 48 jam pasca kematian, berupa warna kehijauan pada dinding abdomen bagian bawah, lebih sering pada fosa iliaka kanan yang lebih banyak berisi cairan karena mengandung lebih banyak bakteri dan terletak lebih superfisial². Perubahan warna ini secara bertahap akan meluas ke seluruh dinding abdomen sampai ke dada dan bau busuk pun mulai tercium.⁵ Perubahan warna juga dapat dilihat pada permukaan organ dalam seperti hepar. Hepar merupakan organ yang langsung kontak dengan kolon transversum. Bakteri selanjutnya menyebar ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah yang menyebabkan hemolisis darah. Selain itu bakteri juga memproduksi gas-gas pembusukan sehingga seluruh dinding pembuluh darah rusak. Bakteri pembusukan cenderung berkumpul dalam sistem vena, intestinal, paru. Bakteri akan tumbuh pada organ parenkim, kemudian masuk ke sitoplasma, menyebabkan desintegrasi organel sel, kemudian nukleus dirusak sehingga sel menjadi lisis.^{2,3,5}

DEGRADASI DNA

Degradasi DNA pada jenazah yang sangat membusuk dapat disebabkan oleh 2 faktor, yaitu faktor dari tubuh jenazah (endogen) dan faktor dari luar jenazah (eksogen). Faktor endogen berasal pada sel sendiri, yang juga dikenal sebagai kerusakan spontan. Faktor eksogen berasal dari lingkungan.⁶

Faktor endogen terjadi pada kerusakan sel dalam tubuh manusia setelah kematian. Seperti diketahui bahwa sel tubuh akan mengalami kematian sel yang timbulnya berbeda-beda pada setiap organ yang sering disebut kematian seluler (kematian molekuler).^{2,5} Namun dalam hal ini yang dimaksud kematian seluler adalah kematian fungsi sel, bukan kematian (kerusakan) DNA dalam sel tersebut, sehingga pada tubuh jenazah masih dapat diperiksa DNA sampai pada waktu tertentu. Pada pembusukan lanjut DNA akan mengalami degradasi / terfragmentasi secara hebat sampai DNA tidak terdeteksi lagi pada tubuh jenazah.^{7,8,9} Ketika DNA mengalami degradasi, DNA akan hancur dalam fragmen yang semakin lama semakin kecil. postulat yang mencoba menjelaskan mekanisme ini adalah *hydrolytic cleavage*, oksidasi kimia dan degradasi enzimatis.⁸

Pada mulanya kematian terjadi akibat terhentinya perfusi darah ke jaringan, sehingga menyebabkan oksigen seluler kekurangan nutrisi akibatnya terjadi penurunan produksi ATP (Adenosin tri-posfat).^{2,4} Pergeseran reaksi produksi ATP dari reaksi fosforilasi oksidatif anaerobik menyebabkan akumulasi asam terutama pada sel-sel yang membutuhkan energi yang lebih tinggi atau aktivitas enzim intraseluler yang tinggi. Namun pada akhirnya seluruh sel tubuh akan terpengaruh karena sel tersebut juga membutuhkan fungsi seluler yang besarseperti organ jantung, ginjal, dan otak. Organ yang berbeda dapat menunjukkan cara kematian sel yang berbeda, sebagai contoh ketika jantung mengalami nekrosis, maka proses kematian selnya 20-40 menit pertama akan terjadi di regio subendokardial, meluas ke miokardium pada 1-3 jam, dan mendekati transmural dalam 24 jam.^{9,10}

Kematian sel pada kasus trauma terjadi karena proses nekrosis bukan apoptosis. Nekrosis merupakan fenomena degeneratif pasif independen yang ditandai

dengan peningkatan volume sel, pembengkakan organel plasma, inti tampak utuh, namun ada kondensasi kromatin. Selanjutnya membran sel ruptur, organel sel rusak dan enzim lisosom memenuhi sel hingga akhirnya terjadi pola degradasi acak DNA.¹¹

Saat kematian sel sering dihubungkan dengan aktivasi beberapa kelas enzim intraseluler termasuk lipase, nuklease, dan protease. Lisosom adalah organel yang mengandung enzim hidrolitik yang berguna untuk endositosis, fagositosis dan autofagi. Ketika lisosom aktif maka protease lisosom dan PH asam dapat merusak biomolekul dengan cara menghilangkan protein histon sebagai protein utama penyusun kromatin yang memudahkan proses pembelahan DNA.¹¹

Kerusakan DNA pada *hydrolytic cleavage* terjadi karena basa glikosida yang merupakan ikatan gula paling rentan terhadap pembelahan untai polinukleotida, karena ia dijadikan serangan hidrolitik yang akan membuat untai basa hilang dan diikuti rusaknya untai DNA 30 -ikatan fosfodiester gula apuridik.¹¹ Secara teoritis, fragmen DNA 800 bp di suhu 15 °C dibutuhkan 50-100 tahun untuk mencapai degradasi 58,6 %. Tambahan lainnya adalah basa DNA seperti guanin, sitosin, 5-metilsitosin dan guanin akan terhidrolisis sehingga mengakibatkan deaminasi generasi hipoksantin, urasil, timin, dan santin.^{11,12,13} Selain itu ada pula kerusakan DNA akibat proses oksidatif yaitu terputusnya rantai karbon (5-6 C=C) pada pirimidin. Basa oksidatif akan memblokir replikasi DNA sehingga lama kelamaan DNA akan terdegradasi.^{9,12,13}

Faktor eksogen terjadi karena adanya kontaminasi dari luar seperti bakteri, paparan suhu, invasi larva (insekta), jamur.⁹ Faktor ini dapat berupa kelanjutan dari faktor endogen, sebagaimana diketahui bahwa saat sel nekrosis dan rusak ditandai dengan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel pada tahap akhir dari kematian sel menyebabkan pelepasan cairan kaya nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroorganisme lingkungan berlanjut dengan degradasi makromolekul.⁶

IDENTIFIKASI DNA JENAZAH

Analisa DNA untuk mengidentifikasi Jenazah dapat dilakukan dengan beberapa metode yang akan

dijelaskan sebagaimana berikut:

1. *Polymerase Chain Reaction*

Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yaitu teknik amplifikasi DNA secara invitro dengan proses enzimatik yang akan menghasilkan jutaan fragmen asal. PCR sering digunakan untuk amplifikasi segmen DNA di daerah yang diketahui urutan basanya. Prinsip dari PCR adalah amplifikasi eksponensial yang selektif terhadap fragmen DNA tertentu.^{8,12,13} Ada dua macam metode PCR yang sering digunakan, yaitu : *Competitive PCR* dan *Real-Time PCR*.⁸ Kelebihan dari pemeriksaan PCR adalah kemampuannya untuk menganalisa bahan yang sudah terdegenerasi sebagian, selain itu karena dapat memperbanyak DNA jutaan sampai milyaran kali sehingga memungkinkan analisis sampel forensiknya dapat berjumlah amat minim.¹² Namun jika nukleat DNA sulit dianalisis, dapat digunakan mitokondria DNA.¹¹

2. *Short Tandem Repeat*

STR (*Short Tandem Repeat*) yaitu pengulangan gugus basa 4-6 *base pair* pada rantai DNA yang spesifik secara periodik pada bidang ilmu forensik. Ada 4 lokus penting pada STR untuk mengidentifikasi DNA yang disebut quadriplex STR yaitu lokus : VWA, TH01, F 13 A dan FES.⁹

3. *Flow Cytometric Analysis*

Flow cytometri adalah metode untuk mendeterminasi konten nukleat DNA relatif sebagai sel individual. *flow cytometri* menganalisis perpindahan sel atau kromosom dalam suspensi yang diterangi sumber cahaya; UV atau laser yang akan terpancar menjadi sinyal. Sinyal tersebut diambil dan dikonversikan menjadi grafik dari pancaran fluoresensi. Dengan menggunakan fluoresensi spesifik DNA, dan menghitung jumlah fluoresensi yang terserap sel kita dapat menganalisis konten DNA. Metode ini dapat mengukur jumlah DNA dalam sel meskipun DNA telah terurai menjadi fragmen-fragmen kecil 1-150 kilobases.¹²

4. *Single cell gel electrophoresis*

Single cell gel electrophoresis (SCGE) kadangkala

juga digunakan untuk menilai degradasi DNA. Metode ini menggunakan migrasi DNA dari sel tak berkapsul pada agar untuk menilai fragmentasi DNA. Sampel jaringan yang tidak lagi berkapsul ditanam pada agar dan DNA tanpa jaringan terdenaturasi. DNA dielektroforesis berikut *encapsulating agarose* dan sampel dengan DNA yang terdegradasi umumnya akan tampak sebagai ekor/ujung untai DNA. Semakin tinggi sinyal dari *DNA tail* semakin besar DNA terdegradasi. SCGE dapat menilai waktu kematian, menganalisis DNA dari otot rangka, otot jantung, hepar dan renal.^{12,13}

5. *DNA Staining*

DNA Staining memiliki beberapa macam tipe yang dapat digunakan untuk menilai degradasi DNA seperti; *Kernechtrot-Picroindigocarmine (KPIC) staining*, *Christmas Tree Staining* dan *Feulgen staining* dengan reagen Schiff.^{12,13}

Mekanisme dalam pengambilan sampel untuk pemeriksaan DNA dapat menggunakan sampel jaringan lunak, hal ini bertujuan untuk mengurangi perlukaan pada jenazah. Sampel yang sudah terpapar formalin memiliki kendala ketidakberhasilan dalam analisis DNA-nya. Hal ini disebabkan karena pH larutan formalin akan semakin turun seiring waktu karena terbentuknya asam format, menyebabkan bertambahnya *AP Site* yang berakhir dengan fragmentasi DNA.^{1,12}

Pada kondisi fisiologis ikatan yang paling labil pada struktur DNA adalah ikatan N-glikosil yang mengikat basa. Hidrolisis pada ikatan tersebut mengakibatkan hilangnya basa yang meninggalkan lokasi apurinik atau apirimidinik (*AP Site*), lokasi tersebut sering berlanjut dengan retakan pada struktur DNA.¹

Namun jika baru terpapar beberapa waktu, analisis DNA dengan menggunakan *Short Tandem Repeat* (STR) masih relevan dilakukan. Ia menggunakan tiga belas lokus STR identitas individu. Ukuran fragmen STR biasanya tidak lebih dari 500 bp, oleh karena itu STR dapat diamplifikasi dengan menggunakan jumlah DNA template yang relatif sedikit (~1ng) dan juga dapat digunakan untuk menganalisa sampel DNA yang sudah terdegradasi.^{7,9,12}

Kadar DNA merupakan faktor penting dalam pemeriksaan DNA forensik yakni berpengaruh terhadap

keberhasilan STR-PCR pada sampel-sampel DNA. Penurunan kadar DNA hingga 1 ng berpotensi terhadap penurunan kemampuan deteksi STR hingga 95%. Selain itu dibutuhkan pula kualitas DNA yang mencukupi yaitu harus dalam kondisi terdegradasi seminimal mungkin. Apabila DNA dalam kondisi terdegradasi parah, maka dapat mengakibatkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan.^{7,9,14}

Analisis DNA juga punya kelemahan seperti pada sampel forensik dan sampel yang sudah sangat lama bisa saja terjadi kontaminasi bakteri, jamur atau serangga sehingga hasil pemeriksaan tidak akurat.⁷ Sampel DNA yang sudah sangat lama bisa mengalami degradasi. Degradasi DNA ini berpengaruh terhadap hasil fragmen DNA yang dibaca pada elektroforesis, pada elektroforesis DNA yang terdegradasi akan sulit diinterpretasi.⁹ PCR mempunyai sensitivitas yang sangat tinggi dalam mendeteksi DNA, namun dapat timbul masalah bila PCR mengamplifikasi sampel DNA yang terkontaminasi. DNA terkontaminasi bisa saja akibat sampel yang sudah sangat lama atau DNA yang terdegradasi sehingga cetakan DNA memiliki level yang sangat rendah akibatnya DNA menjadi rusak dan tak mungkin dapat diamplifikasi yang nantinya menghasilkan positif palsu.¹⁵

KESIMPULAN

Pada jenazah yang sudah sangat membusuk, DNA dapat mengalami degradasi sehingga apabila dilakukan analisis DNA bisa saja hasilnya tidak akurat. Proses degradasi DNA pada jenazah yang sudah sangat membusuk terjadi karena adanya faktor endogen maupun eksogen. Degradasi DNA ini berpengaruh terhadap hasil fragmen DNA yang dibaca pada elektroforesis, pada elektroforesis DNA yang terdegradasi akan sulit diinterpretasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kusumadewi A, Kusuma S E and Yudianto A. *The Analyze of Human DNA Soft Tissue that Contaminated Formalin During*. 2, Surabaya : JBP Fakultas kedokteran

Universitas Airlangga, 2012, Vol. 14.

2. Amir A. *Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal*. Medan : Fakultas Kedokteran USU, 2007.
3. Suryadi T. *Validitas Hasil Pemeriksaan Metode Aglutinasi Direk dan Elusi Absorpsi untuk Identifikasi Golongan Darah pada Jenazah, Metode Analisis DNA sebagai Baku Emas*. Disertasi. Fakultas Kedokteran UGM, 2014.
4. Kementerian Kesehatan RI. *Pedoman Pelaksanaan Korban Mati Pada Bencana Massal*. Cetakan kedua. Jakarta. 2006.
5. Idries AM, Tjiptomartono AL. *Penerapan ilmu kedokteran forensik dalam proses penyidikan*. Sagung seto, Jakarta. 2008.
6. Prawestiningtyas E and Algozi A M. *Forensic Identification Based on Both Primary and Secondary Examination Priority in.. 2*, Malang : Jurnal Kedokteran Brawijaya , 2009, Vol. XXV.
7. Poinar HN. 2003. The top 10 list: criteria of authenticity for DNA from ancient and forensic samples. *International congress series* 1239. 2003:575-9.
8. McCord B, Opel K, Funes M, Zoppis S, Jantz L. *An Investigation of the Effect of DNA Degradation and Inhibition on PCR Amplification of Single Source and Mixed Forensic Samples*. United Satate : U.S. Department of Justice., 2011.
9. Watson W J. *Dna Degradation As An Indicator Of Post-Mortem Interval*. North Texas : University Of North Texas, 2010.
10. CCRC. *Mekanisme Dan Regulasi Apoptosis*. Jakarta : Farmasi UGM, 2009.
11. Hartati Y W and Maksum I P. *Amplification Of 0,4 kb D-Loop Region of Mitochondria DNA From Ephilium Cell For Forensic Analysis*. Bandung : FMIPA Universitas Padjajaran, 2012.
12. Dale W M, Greenspan, O and Orokos D. *DNA Forensics: Expanding Uses and Information sharing*. California : Search The National Consortium for Justice, 2006.
13. Reza A and Walsh S. *Review Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA—A review*. Sydney : Elsevier, 2010, 4: 148-157
14. Hubscher U, Maga G and Spadari S. *Eukaryotic DNA Polymerases*. Switzerland: Annurev Biochem journal, 2002, 71 (1) 133-163.

15. Parson & Weedn TP. 1996. Preservation and Recovery of DNA in Postmortem Specimens and Trace Samples. In *Advances in Forensic Taphonomy* The Fate of Human Remains, edited by William Haglund and Marcella Sorg, CPR Press, New York, 1996, pg. 109-138.