

**VALIDASI JUMLAH SIKLUS AMPLIFIKASI *YFILER* PADA MANUSIA**

**Artikel Publikasi Ilmiah**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

Dinar Larasati

M0410019

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

**SURAKARTA**

**2017**

## VALIDASI JUMLAH SIKLUS AMPLIFIKASI *YFILER* PADA MANUSIA

<sup>1)</sup>Dinar Larasati, <sup>2)</sup>Okid Parama Astirin, <sup>3)</sup>Putut T. Widodo

<sup>1)</sup>dinarasati@gmail.com <sup>2)</sup>parama\_astirin@yahoo.com <sup>3)</sup>pututtw@yahoo.com

<sup>1,2)</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

<sup>3)</sup>Laboratorium DNA, Pusat Kedokteran dan Kesehatan Polri, Jakarta

### ABSTRAK

Di dalam laboratorium forensik, pengungkapan suatu kasus tindak kriminal Di dalam laboratorium forensik, pengungkapan suatu kasus tindak kriminal dapat dilakukan melalui identifikasi DNA manusia. Salah satu cara identifikasi DNA manusia dapat dilakukan melalui analisis kromosom Y. *Yfiler* adalah sebuah kit komersial yang dapat digunakan dalam analisis kromosom Y. Namun, penggunaan *Yfiler* terbilang baru di Indonesia, khususnya di Laboratorium DNA Pusdokkes Polri, Jakarta. Oleh karena itu, *Yfiler* perlu divalidasi untuk membuktikan ketepatangunaan dan akurasi fungsi dari kit tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah siklus amplifikasi *Yfiler* tervalid, serta hubungan antara jumlah siklus dengan rata-rata tinggi *peak*, dan persamaan regresi yang terbentuk.

Dalam penelitian ini, validasi dilakukan dengan cara memodifikasi jumlah siklus amplifikasi. Jumlah siklus amplifikasi yang digunakan adalah 27, 28, 29, 30, 31, dan 32 siklus. Data dianalisis dengan menggunakan aplikasi *Gene Mapper*<sup>®</sup> ID Software v 3.2, serta diuji homogenitas dan signifikansi menggunakan ANOVA dengan probabilitas 5% ( $\alpha=0,05$ ). Penentuan model kurva standar dilakukan menggunakan SPSS *Statistic* v. 20. Jumlah siklus tervalid ditentukan dengan memilih rata-rata tinggi *peak* dari masing-masing jumlah siklus, yang mendekati nilai median rata-rata tinggi *peak* standar (100 – 10.000 RFU). Kemudian, hasil yang diperoleh dibandingkan dengan hasil validasi yang dilakukan petunjuk manual *AmpFlSTR*<sup>®</sup> *Yfiler*<sup>®</sup> PCR Amplification Kit.

Jumlah siklus amplifikasi tervalid yang diperoleh dari penelitian ini adalah pada jumlah siklus 31. Hubungan antara jumlah siklus amplifikasi dengan rata-rata tinggi *peak* mengikuti bentuk kurva S, yaitu setiap penambahan jumlah siklus amplifikasi akan diikuti dengan penambahan tinggi *peak*, dengan persamaan regresi:  $\ln y = 19,636 - (13,575/x)$ .

Kata kunci: validasi, *Yfiler*, kromosom Y, amplifikasi, jumlah siklus, kurva S

## VALIDATION OF THE NUMBER OF YFILER AMPLIFICATION CYCLES IN HUMAN

<sup>1)</sup>Dinar Larasati, <sup>2)</sup>Okid Parama Astirin, <sup>3)</sup>Putut T. Widodo

<sup>1)</sup>dinarasati@gmail.com <sup>2)</sup>parama\_astirin@yahoo.com <sup>3)</sup>pututtw@yahoo.com

<sup>1,2)</sup>Departement of Biology, Faculty of Mathematic and Natural Science,  
Sebelas Maret University, Surakarta

<sup>1)</sup> DNA Laboratory, Centre for Medicine and Health of Polri, Jakarta

### ABSTRACT

In a forensic laboratory, disclosure of a criminal case can be done by human DNA identification. Identifying human DNA can be done through Y chromosome analysis. Yfiler is a commercial kit that can be used in Y chromosome analysis. However, the use of Yfiler is relatively new in Indonesia, especially in the DNA Laboratory of Pusdokkes Polri, Jakarta. Therefore, Yfiler needs to be validated to prove the usefulness and functionality of the kit. The purposes of this study are to determine the most valid number of Yfiler amplification cycles, and the relationship between the number of cycles with peak height average and the regression equation formed.

In this research, validation is done by modifying the number of amplification cycles. The number of amplification cycles used were 27, 28, 29, 30, 31, and 32 cycles. Data were analyzed using Gene Mapper<sup>®</sup> ID Software v 3.2 application. Homogeneity and significance test using ANOVA with probability 5% ( $\alpha=0,05$ ). Standard curve model is determined by using SPSS Statistic v. 20. The most valid number of cycles is determined by selecting an peak height average of each cycle number, which is close to the median value of the peak standard height average (100 – 10.000 RFUs). Then, the results are compared with the validation of the AmpFISTR<sup>®</sup> Yfiler<sup>®</sup> PCR Amplification Kit manual instructions.

The most valid number of amplification cycles obtained from this study is on the number of cycles 31. The relationship between the number of amplification cycles with the peak height average follows the curve shape S, that is each additional number of amplification cycles will be followed by the addition of peak height, with regression equation:  $\ln y = 19,636 - (13,575/x)$ .

Key words: validation, Yfiler, Y chromosome, amplification, number of cycle, S curve

## PENDAHULUAN

Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus dipenuhi. Validasi harus sesuai dengan kebutuhan penerapan yang ditetapkan atau bidang penerapan. Laboratorium harus merekam hasil yang diperoleh, prosedur yang digunakan untuk validasi, dan pernyataan bahwa metode tersebut tepat untuk penggunaan yang dimaksud. Validasi dilakukan untuk melihat pengaruh dari kondisi peralatan-peralatan yang digunakan, pereaksi dan personil yang melakukan pemeriksaan. Metode yang telah tervalidasi dengan baik dapat memberikan hasil yang valid (Badan Standardisasi Nasional, 2008, Mulyati dkk., 2011, Hadi, 2007).

Dalam kasus forensik sering ditemukan sampel DNA dari terduga tersangka pada lokasi kejadian, sehingga oleh laboratorium forensik perlu dilakukan pembuktian untuk mengetahui apakah DNA terduga tersangka berpolimorfisme dengan sampel DNA yang ditemukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan amplifikasi DNA pada situs polimorfisme dan terjadi sekuensing DNA agar ditemukan kecocokan pada sampel DNA. Sekuensi nukleotida dari amplifikasi DNA dapat menentukan kecocokan dua sampel DNA (Watson dkk., 2008).

*AmpFISTR<sup>®</sup> Yfiler<sup>®</sup> PCR Amplification Kit* merupakan kit yang digunakan dalam pengujian STR yang dapat mengamplifikasi 17 lokus Y-STR dalam satu amplifikasi PCR. Jumlah ini didasarkan penggabungan yang dianjurkan oleh *Scientific Working Group on DNA Analysis Methods* (DYS438 dan DHS439), *haplotype* minimal negara-negara Eropa (DYS19, DHS385a/b, DHS389I/II, DHS390, DHS391, DHS392, DHS393), dengan tambahan lokus Y-STR (DYS437, DHS448, DHS456, DHS458, DHS635 (Y GATA C4), dan Y GATA H4). *Yfiler* mengandung semua reagen yang diperlukan untuk amplifikasi DNA genom laki-laki secara spesifik. *Yfiler* memungkinkan untuk menganalisis secara spesifik keberadaan DNA laki-laki di antara tingginya konsentrasi DNA perempuan, meskipun berada dalam campuran DNA

perempuan yang jumlahnya lebih dari 1000 kali lipatnya (Applied Biosystems, 2005, Life Technologies<sup>1</sup>, 2012).

Laboratorium DNA Pusdokkes Polri akan menggunakan kit *Yfiler* sebagai alat bantu identifikasi dalam kasus-kasus yang berkaitan dengan adanya individu laki-laki. Namun, sebelum digunakan sebagai alat identifikasi perlu dilakukan validasi *Yfiler* agar didapatkan hasil yang baik, akurat, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. *Yfiler* sendiri merupakan kit komersial yang berarti bahwa pada dasarnya metode pada kit ini sudah terstandarisasi dan telah teruji dengan baik. Namun, meskipun beberapa produsen kit mungkin memiliki proses kontrol kualitas (QC) yang ketat, kit mungkin tidak akan sepenuhnya bebas dari kesalahan (*error-free*). Oleh karena itu, kit perlu divalidasi kembali untuk melihat apakah metode yang dilakukan di laboratorium akan sesuai atau melebihi standar. Cakupan metode standar harus sesuai dengan cakupan laboratorium, sehingga persyaratan metode dan kesesuaian dari keseluruhan sistem analitik dalam lingkungan laboratorium harus diverifikasi untuk metode ini. (Anonim, 2016, Ravichandran dkk., 2010).

Salah satu aspek yang perlu diuji dalam validasi *Yfiler* adalah dengan menguji jumlah siklus amplifikasi untuk mendapatkan jumlah siklus amplifikasi teroptimal dari *Yfiler<sup>TM</sup> Kit*. Menurut Butler (2005), kondisi PCR teroptimal (temperatur denaturasi, *annealing*, dan *extension*, serta waktu) diuji dengan mengurangi atau menambahkan jumlah siklus dari protokol standar untuk mengevaluasi kinerja sistem multipleks STR. Sensitivitas deteksi alel dari masing-masing lokus tentu saja tergantung pada kualitas template DNA yang dimasukkan. Dengan memperlajari jumlah siklus, memungkinkan laboratorium untuk menentukan tingkat toleransi sistem multipleks STR dengan berbagai jumlah template DNA. Jumlah siklus PCR yang lebih tinggi (misalnya, 34, bukan 28) mungkin dapat lebih baik dalam mengamplifikasi genom DNA yang berkualitas rendah, dengan kata lain produk amplifikasi nonspesifik yang dihasilkan akan meningkat seiring dengan semakin banyaknya jumlah siklus PCR yang digunakan.

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium DNA Pusdokes Polri, Jakarta pada bulan November 2014 sampai Februari 2015. Alat yang digunakan antara lain penyeka kapas steril (*buccal swab kit*), *microtube* 2 ml, *biosafety cabinet*, mikropipet, tip mikropipet, rak *tube*, *microtubes* 1,5 ml, *Hettich Mikro 200R centrifuge*, *Memmert water bath*, *shaker*, lemari es, *heating block*, *vortex*, *mini centrifuge*, *hot plate*, *laminar flow cabinet*, *laminar UV 4 PCR*, *Applied Biosystem 7500 Real Time PCR System*, *MicroAmp<sup>®</sup> Reaction Tube with Cap* 0,2 ml, *MicroAmp<sup>™</sup> Optical 96-Well Reaction Plate* 0,2 ml, *MicroAmp<sup>™</sup> Splash Free Support Base*, *Adhesive Seal Applicator*, *Microamp<sup>™</sup> Optical Adhesive Film*, *Applied Biosystem SDS software*, *GeneAmp<sup>®</sup> PCR System 9700 Cycler*, *MicroAmp<sup>®</sup> tube rack*, *MicroAmp<sup>®</sup> Optical 96-Well Septa*, *Applied Biosystems<sup>®</sup> 3130 Genetic Analyzer*, *GeneMapper<sup>®</sup> ID Software v 3.2*, gunting, termometer, *timer*, gelas beker, botol kaca bertutup, pengaduk (*stirrer*), gelas ukur, timbangan digital, alat tulis, kalkulator, dan seperangkat komputer. Bahan yang digunakan antara lain *tissue* (kertas lap), alkohol 70%, *bleach* 10%, kertas minyak, sampel sel epitel mukosa mulut, larutan *Chelex* 5%, *proteinase K* 10 mg, *Quantifiler<sup>™</sup> Human DNA Quantification Kit*, *TE buffer*, *AmpFlSTR<sup>®</sup> Yfiler<sup>™</sup> PCR Amplification Kit*, *Hi-Di<sup>™</sup> Formamide*, *GeneScan<sup>™</sup> 500 LIZ<sup>®</sup> Size Standard*, *AmpFlSTR<sup>®</sup> Yfiler<sup>®</sup> Allelic Ladder*, POP-4, *buffer* EDTA 1x, dan ddH<sub>2</sub>O.

Sampel epitel sel mukosa mulut diambil dari dua orang donor berjenis kelamin laki-laki dengan 2 kali pengambilan (ulangan) sampel pada masing-masing donor, yang dilakukan dengan cara menyeka (*swab*)/membuat apusan bagian dalam rongga mulut donor dengan penyeka kapas steril (*buccal swab kit*). Sampel yang diperoleh kemudian diekstraksi menggunakan metode *Chelex*. Selanjutnya dilakukan kuantifikasi DNA pada sampel hasil ekstraksi menggunakan *Real Time PCR*. Lalu dilanjutkan dengan amplifikasi *Yfiler* yang langsung dilakukan dengan memodifikasi jumlah siklus amplifikasi. Sampel hasil amplifikasi dielektroforesis menggunakan elektroforesis kapiler. Kemudian, data hasil elektroforesis dianalisis.

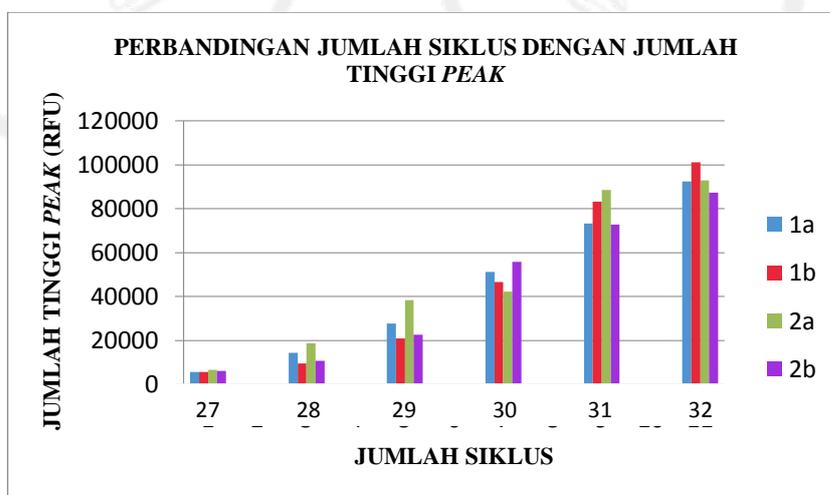
Data yang diperoleh dianalisis menggunakan aplikasi *Gene Mapper*<sup>®</sup> ID Software v 3.2. Uji homogenitas dan signifikansi dilakukan menggunakan ANOVA dengan probabilitas 5% ( $\alpha=0,05$ ). Penentuan model kurva standar dilakukan menggunakan SPSS *Statistic* v.20. Jumlah siklus tervalid ditentukan dengan memilih rata-rata tinggi *peak* dari masing-masing jumlah siklus, yang mendekati nilai median rata-rata tinggi *peak* standar (100 – 10.000 RFU). Kemudian, hasil yang diperoleh dibandingkan dengan hasil dari validasi yang dilakukan petunjuk manual *AmpFlSTR*<sup>®</sup> *Yfiler*<sup>®</sup> PCR Amplification Kit.



## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Profil lengkap Y-STR

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, profil lengkap Y-STR dapat terbaca dengan baik. Perbedaan ketinggian *peak* pada tiap lokus dari masing-masing sampel, kontrol, maupun *allelic ladder* dapat terbaca dan memberikan hasil yang baik. Profil lengkap Y-STR dari masing-masing sampel yang diuji sudah dapat terlihat mulai dari jumlah siklus terendah yang digunakan, yaitu 27. Menurut Life Technologies<sup>1</sup> (2012), profil lengkap Y-STR dapat terlihat mulai dari jumlah siklus 28. Pada penelitian ini, jumlah siklus yang diuji dimulai dari 27, sehingga menunjukkan bahwa meskipun amplifikasi dilakukan pada jumlah siklus yang lebih rendah pun, profil lengkap Y-STR masih tetap dapat terbaca dengan baik. Namun, hasil pembacaan ketinggian *peak* dari masing-masing ulangan sampel yang diuji terlihat berbeda, meskipun berasal dari orang yang sama. Menurut Shihabi (2001) dan Wanders (1997), ketidaktepatan tinggi atau area *peak* dari hasil elektroforesis kapiler dapat disebabkan karena volume atau waktu injeksi, efek dinding kapiler, temperatur *buffer* di dalam kapiler, perubahan pada permukaan kapiler, serta ukuran dan volume sampel.



Gambar 1. Grafik perbandingan jumlah siklus dengan jumlah tinggi *peak*

Hasil juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah ketinggian puncak (*peak*) dari rentang jumlah siklus yang dipelajari. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah siklus yang digunakan, dapat meningkatkan

jumlah produk PCR (kuantitas) yang dihasilkan (gambar 1). Namun, peningkatan ini tidak menunjukkan bahwa dengan semakin tingginya jumlah siklus yang digunakan akan memberikan hasil (kualitas) yang lebih baik. Hal ini karena ditemukan juga bahwa semakin tinggi jumlah siklus yang digunakan, turut menambah jumlah *Off-Ladder* (OL) alel.

#### B. Uji homogenitas

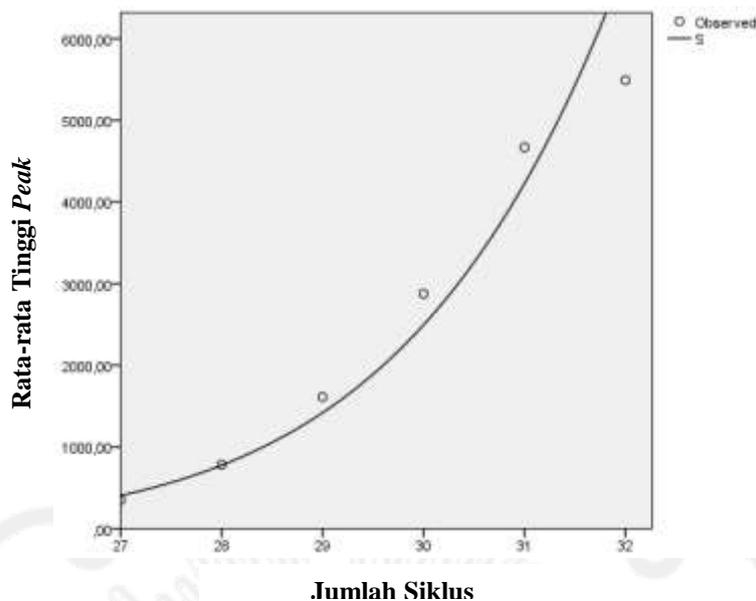
Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui adakah perbedaan antara tiap sampel dari satu jumlah siklus yang sama. Hasil menunjukkan bahwa antara keempat sampel pada tiap modifikasi jumlah siklus, menghasilkan data yang homogen/tidak ada perbedaan nyata.

#### C. Uji signifikansi

Uji signifikansi dilakukan untuk mengetahui adakah perbedaan yang signifikan antara tiap jumlah siklus yang diuji. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata atau perbedaan yang signifikan pada tiap jumlah siklus yang diuji. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada keterkaitan antara jumlah siklus satu dengan jumlah siklus lainnya.

#### D. Analisis model kurva untuk mendapatkan persamaan regresi

Untuk mengetahui hubungan antara jumlah siklus dengan rata-rata tinggi *peak* perlu ditentukan penggunaan jenis model kurva yang terbaik, sehingga dapat diperoleh persamaan regresinya. Penentuan model kurva dilakukan dengan menguji berbagai jenis kurva yang terdapat dalam aplikasi SPSS *Statistic* v.20. Jenis kurva dipilih berdasarkan hasil uji ANOVA (signifikan), hasil uji konstanta dan koefisien (signifikan), serta besarnya nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) ( $R^2$  paling mendekati 1). Dari 11 macam kurva yang diuji, diperoleh kurva S ( $R^2 = 0,979$ ) yang memenuhi kriteria sebagai kurva standar dalam penelitian ini. Dari kurva S tersebut (gambar 2), maka hubungan antara jumlah siklus dengan rata-rata tinggi *peak* dapat dilihat dari persamaan regresi berupa  $\ln y = 19,636 - (13,575/x)$



Gambar 2. Kurva S hubungan antara jumlah siklus (X) dengan rata-rata tinggi *peak* (Y)

Pada gambar 2, terlihat bahwa jumlah siklus dapat mempengaruhi rata-rata tinggi *peak*, yaitu dengan semakin tingginya jumlah siklus yang digunakan, maka semakin tinggi pula rata-rata tinggi *peak* yang dihasilkan. Selain itu, terlihat juga bahwa kurva S tidak sepenuhnya berbentuk huruf “S” seperti seharusnya. Hal ini disebabkan oleh terbatasnya jumlah siklus yang diuji dalam penelitian ini. Apabila penelitian yang dilakukan dimulai dari jumlah siklus yang lebih rendah 27 dan lebih tinggi dari 32, maka kurva dapat membentuk huruf “S”. Sehingga, juga dapat lebih diketahui batasan minimum dan maksimum dari jumlah siklus yang digunakan.

#### E. Penentuan jumlah siklus tervalid

Besaran rata-rata tinggi *peak* yang valid yang digunakan dalam penelitian ini mengikuti standar menurut Laboratorium DNA Pusat Kedokteran dan Kesehatan Polri, yaitu antara 100 – 10.000 RFU. Apabila rata-rata tinggi *peak* berada di atas 10.000 RFU atau terlalu tinggi dapat menyebabkan intensitas sinyal melewati batas atau jenuh, sehingga sampel perlu diencerkan karena konsentrasi DNA amplifikasi terlalu banyak. Sedangkan apabila di bawah 100 RFU atau terlalu rendah dapat menyebabkan sulitnya membedakan antara *peak* sampel dan fluktuasi latar belakang, sehingga sampel perlu

dipekatkan karena konsentrasi DNA hasil amplifikasi terlalu sedikit (Life Technologies<sup>2</sup>, 2014). Jumlah siklus yang valid dipilih untuk menentukan jumlah siklus manakah yang dapat digunakan dalam amplifikasi *AmpFISTR*<sup>®</sup> *Yfiler*<sup>®</sup> PCR Amplification Kit. Jumlah siklus yang valid dipilih berdasarkan besarnya rata-rata tinggi *peak* yang diperoleh (tabel 1).

Tabel 1. Data perbandingan rata-rata tinggi *peak*

Jumlah Siklus	Rata-Rata Tinggi <i>Peak</i> (RFU)				Rata-Rata Tinggi <i>Peak</i> Tiap Siklus (RFU)
	Sampel 1		Sampel 2		
	a	b	a	b	
27	332,53	328,29	384,94	354,24	350
28	839,88	558,06	1098,71	635	782,91
29	1627,65	1233,53	2259,18	1327,59	1611,99
30	3006,18	2745,29	2478,76	3276,76	2876,75
<b>31</b>	<b>4305,06</b>	<b>4889,41</b>	<b>5201,88</b>	<b>4276,18</b>	<b>4668,13</b>
32	5428,76	5942,24	5455,88	5136,59	5490,87

Hasilnya diperoleh bahwa semua jumlah siklus (27, 28, 29, 30, 31, dan 32) memiliki rata-rata tinggi *peak* berkisar antara 100 – 10.000 RFU. Sehingga, jumlah siklus 27, 28, 29, 30, 31, dan 32 dapat dianggap sebagai jumlah siklus yang valid atau dapat memberikan hasil amplifikasi *AmpFISTR*<sup>®</sup> *Yfiler*<sup>®</sup> PCR Amplification Kit yang optimal. Menurut petunjuk manual *AmpFISTR*<sup>®</sup> *Yfiler*<sup>®</sup> PCR Amplification Kit (Life Technologies<sup>1</sup>, 2012), jumlah siklus teroptimal yang dapat digunakan dalam amplifikasi *Yfiler* adalah 30 siklus. Namun, dari penelitian ini semua jumlah siklus diketahui dapat memberikan hasil yang optimal, oleh karena itu perlu ditentukan jumlah siklus manakah yang tervalid. Jumlah siklus tervalid dipilih dengan cara memilih rata-rata tinggi *peak* yang paling mendekati nilai median rata-rata tinggi *peak* standar yang digunakan (100 – 10.000 RFU), yaitu 5050 RFU. Sehingga, diperoleh bahwa jumlah siklus 31 (4668,13 RFU) sebagai jumlah siklus tervalid. Laboratorium DNA Puskokes Polri dapat memilih jumlah siklus amplifikasi manakah yang akan digunakan, dapat mengikuti sesuai petunjuk manual atau menggunakan jumlah siklus tervalid dari hasil penelitian ini.

Dari penelitian ini, tidak ditemukan adanya jumlah siklus yang memiliki nilai RFU di bawah 100 RFU maupun di atas 10.000 RFU karena kurangnya jangkauan jumlah siklus rendah maupun jumlah siklus tinggi yang digunakan. Apabila penelitian dilakukan menggunakan jumlah siklus yang lebih rendah dari 27 dan lebih tinggi dari 32, maka dapat diperoleh batasan minimum dan maksimum jumlah siklus yang dapat digunakan.



## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Jumlah siklus amplifikasi tervalid yang diperoleh dari validasi jumlah siklus amplifikasi *AmpFlSTR<sup>®</sup> Yfiler<sup>®</sup> PCR Amplification Kit* adalah pada jumlah siklus 31.
2. Hubungan antara jumlah siklus amplifikasi dengan rata-rata tinggi *peak* mengikuti bentuk kurva S, yaitu setiap penambahan jumlah siklus amplifikasi akan diikuti dengan penambahan tinggi *peak*, dengan persamaan regresi:

$$\ln y = 19,636 - (13,575/x).$$

### Saran

1. Perlu dilakukan penambahan jumlah siklus amplifikasi yang diuji, yaitu di bawah 27 dan di atas 32, agar dapat terbentuk kurva S yang sempurna.
2. Perlu dilakukan penelitian jumlah siklus amplifikasi di bawah 27 dan di atas 32, agar dapat diketahui batasan minimum dan maksimum jumlah siklus yang valid.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim. 2016. *Kit Validation Q & A*. [http://tcl.research.chop.edu/sites/default/files/documents/kit\\_validation\\_qa\\_web\\_page\\_20160620\\_0.pdf](http://tcl.research.chop.edu/sites/default/files/documents/kit_validation_qa_web_page_20160620_0.pdf). [15 Juni 2017].
- Applied Biosystems. 2005. *AmpFISTR® Yfiler™ PCR Identification Kit*. [https://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/applied\\_markets\\_marketing/documents/generaldocuments/cms\\_042255.pdf](https://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/applied_markets_marketing/documents/generaldocuments/cms_042255.pdf). [19 januari 2014].
- Badan Standardisasi Nasional. 2008. *Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi*. <http://surabaya.bpkimi.kemenperin.go.id/download/Regulasi/Standard/SNI%20SO%20IEC%2017025%202008.pdf>. [22 Januari 2014].
- Butler, J.M. 2005. *Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers, Second Edition*. Elsevier Academic Press, New York.
- Butler, J.M. 2015. *Advance Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*. Elsevier Academic Press, San Diego.
- Hadi, A. 2007. *Pemahaman dan Penerapan ISO/IEC 17025 Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Laboratorium DNA Pusat Kedokteran dan Kesehatan Polri. *DNA-Manual-011-V01: GeneMapper Manual*.
- Life Technologies<sup>1</sup>. 2012. *AmpFISTR® Yfiler® PCR Amplification Kit User Guide*. [http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/applied\\_markets\\_support/documents/generaldocuments/cms\\_041477.pdf](http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/applied_markets_support/documents/generaldocuments/cms_041477.pdf). [19 Januari 2014].
- Life Technologies<sup>2</sup>. 2014. *DNA Fragment Analysis by Capillary Electrophoresis*. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/4474504.pdf>. [22 Agustus 2017].

- Mulero, J.J., C.W. Chang, L.M. Calandro, R.L. Green, Y. Li, C.L. Johnson, dan L. K. Hennessy. 2006. Development and Validation of the AmpFISTRs Yfiler™ PCR Amplification Kit: A Male Specific, Single Amplification 17 Y-STR Multiplex System. *Journal of Forensic Sciences* 51(1): 64-75.
- Mulyati, A.H., Sutanto, dan D. Apriyani. 2011. Validasi Metode Analisis Kadar Ambroksol Hidroklorida Dalam Sediaan Tablet Cystelis® Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Ekologia* 11(2): 36-45.
- Ravichandran, V., S. Shalini, K.M. Sundram, H. Rajak. 2010. Validation of Analytical Methods – Strategies & Importance. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(3): 18-22.
- Shihabi, Z.K. 2001. Serum Drug Monitoring by Capillary Electrophoresis. In: Petersen, J.R. dan A.A. Mohammad (Eds.). *Clinical and Forensic Application of Capillary Electrophoresis*. Springer Science+Business Media, New York.
- Wanders, B.J. 1997. Data Analysis in Capillary Electrophoresis. In: Landers, J.P. (Ed.) *Handbook of Capillary Electrophoresis, Second Edition*. CRC Press, Washington, D.C.
- Watson, J.D., T.A. Baker, S.P. Bell, A. Gann, M. Levine, dan R. Losick. 2008. *Molecular Biology of The Gene Sixth Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.