

Dari Mikroskop ke Machine Learning: Tinjauan Literatur tentang Teknologi Pemeriksaan Spermatozoa pada Kasus Kekerasan Seksual (2019–2024)

From Microscopy to Machine Learning: A Literature Review on Spermatozoa Detection in Sexual Assault Cases (2019–2024)

Neshya Ruriana Putri ^{1*}, Baety Adhayati ², Yenni Wisudarma ³

^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
Jalan Pakupatan, Kota Serang, Banten Indonesia

*Corresponding author

Email: dr.neshya@untirta.ac.id

Abstract

Keyword :
Semen detection,
Vaginal Swab,
LAMP,
Y-STR,
CNN

Background: Forensic semen examination in sexual assault cases aims to detect spermatozoa or male-specific biomarkers. Conventional methods (microscopy, acid phosphatase, and PSA tests) remain widely applied but have limited sensitivity and specificity. In the past five years (2019–2024), emerging techniques such as Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP), Y-STR profiling, sperm-specific DNA aptamers, and Convolutional Neural Networks (CNNs) have been introduced. **Objective:** This review summarizes and compares conventional and innovative semen detection methods, addressing a current gap as no review has specifically examined this comparison in forensic sexual cases. **Methods:** Literature was retrieved from PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, and Garuda using relevant keywords, restricted to English and Indonesian publications (2019–2024). Selected articles were narratively analyzed. **Results:** Microscopy and biochemical assays remain essential but are prone to false-positive/negative outcomes. DNA-based methods (LAMP, Y-STR) improve sensitivity in mixed or azoospermic samples, while aptamer- and CNN-based approaches offer promising acceleration with high accuracy. **Conclusion:** Integrating conventional and innovative methods is recommended to optimize forensic semen detection. Further standardization and validation are required before broader implementation in Indonesian laboratories.

Kata kunci :
Deteksi semen,
Swab vaginal,
LAMP,
Y-STR,
CNN

ABSTRAK

Latar Belakang: Pemeriksaan forensik semen pada kekerasan seksual bertujuan mendeteksi keberadaan *Spermatozoa* atau penanda pria spesifik. Metode konvensional (mikroskopi, uji asam fosfatase dan PSA) masih digunakan luas namun sensitivitas dan spesifisitas terbatas. Lima tahun terakhir (2019-2024), muncul inovasi seperti *Loop-mediated Isothermal Amplification* (LAMP), analisis *Y-STR*, aptamer DNA spesifik sperma, dan *Convolutional Neural Network* (CNN). **Tujuan:** Artikel ini mereview metode deteksi semen terbaru dan membandingkannya dengan metode konvensional, karena hingga kini belum ada review yang secara khusus mengulas perbandingan tersebut dalam konteks forensik seksual. **Metode:** Penelusuran literatur dilakukan melalui PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, dan Garuda dengan kata kunci terkait, mencakup publikasi 2019-2024 dalam Bahasa Inggris dan Indonesia. Artikel yang relevan dianalisis secara naratif. **Hasil:** Mikroskopi dan uji kimia tetap menjadi standar awal, namun rentan *false positive/negative*. Metode berbasis DNA (LAMP, Y-STR) meningkatkan sensitivitas pada sampel bercampur atau azoospermia, sementara aptamer dan CNN menawarkan prospek percepatan analisis dengan akurasi tinggi. **Kesimpulan:** Kombinasi metode konvensional dan inovatif direkomendasikan untuk meningkatkan deteksi forensik semen. Standardisasi dan validasi lebih lanjut diperlukan sebelum implementasi luas di laboratorium Indonesia.

LATAR BELAKANG

Deteksi dan identifikasi cairan semen di Tempat Kejadian Perkara (TKP) maupun pada tubuh korban merupakan aspek krusial dalam investigasi forensik kasus kekerasan seksual. Keberadaan semen atau spermatozoa pada *swab* vagina korban dapat menghubungkan pelaku dengan tindak pidana dan mendukung pembuktian hukum.¹ Pemeriksaan forensik semen umumnya bertumpu pada kombinasi uji presumtif (kimiawi) dan uji konfirmasi (mikroskopis). Tes asam fosfatase (ACP) semen adalah uji presumtif paling lama dan populer – enzim acid phosphatase yang tinggi dalam semen akan mengkatalisis substrat tertentu menghasilkan perubahan warna cepat (ungu) bila semen hadir. Uji ACP sangat sensitif dan cepat (hasil positif kuat dalam ~15 detik) sehingga berguna sebagai skrining lapangan. Namun, kekurangannya adalah spesifisitas rendah – enzim serupa dari cairan vagina (vaginal acid phosphatase) dapat memberi reaksi positif lemah (false positive), terutama bila pembacaan melewati 30 detik.² Oleh sebab itu, hasil ACP perlu dikonfirmasi dengan metode lain dan tidak dianggap bukti definitif.

Uji Prostat Specific Antigen (PSA/p30) merupakan tes imunokromatografi cepat yang lebih spesifik untuk semen. PSA adalah protein yang disekresi kelenjar prostat dan tetap ada pada cairan semen meski pelaku azoospermia (tanpa spermatozoa). Kartu uji PSA (seperti ABACard® p30) dapat mendeteksi PSA >1 ng/mL dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi (mendekati 100% dan 96%). PSA juga dianggap marker forensik andal karena kadarnya sangat tinggi dalam semen dan umumnya hilang dari vagina dalam 24–48 jam pasca hubungan. Kelebihan uji PSA adalah mampu mengkonfirmasi keberadaan semen pada kasus pelaku vasectomy/azospermia, di mana tidak ditemukan sperma hidup.² Meski begitu, uji ini membutuhkan inkubasi beberapa menit

sampai jam (tergantung metode kualitatif vs kuantitatif) dan alat pembaca tertentu untuk hasil optimal.

Metode pemeriksaan mikroskopis apus vagina berperan sebagai gold standard konfirmasi adanya spermatozoa. Sediaan apus diperiksa dengan pewarnaan histologis khusus, seperti metode Christmas Tree (Kernechtrot-Picroindigocarmine) atau pewarnaan Baecchi (acid fuchsin-methylene blue). Spermatozoa akan tampak dengan kepala berwarna merah/pink dan ekor hijau atau biru kontras terhadap sel epitel vaginal. Identifikasi visual sperma di bawah mikroskop memastikan secara definitif bahwa cairan mani ada pada sampel. Tetapi, teknik ini sangat bergantung pada keahlian analis dan kondisi sampel. Pada kasus di mana jumlah sperma sangat sedikit, atau sudah rusak/diovalosi, pencarian di seluruh bidang sediaan menjadi pekerjaan yang melelahkan dan memakan waktu.¹ Dua pertiga kasus kekerasan seksual dilaporkan gagal mengidentifikasi profil DNA pelaku jika hanya mengandalkan pemeriksaan serologi tradisional, terutama karena sampel bercampur dengan dominasi sel epitel korban. Selain itu, sekitar 1,9% kasus bercak semen pada swab tidak mengandung sperma (pelaku azoospermia), sehingga pemeriksaan mikroskopis konvensional tidak akan menemukan sel sperma. Dalam situasi demikian, diperlukan metode deteksi alternatif yang menasar penanda molekuler semen (misal antigen spesifik atau DNA spesifik pria) untuk memastikan adanya jejak pelaku.^{3–5}

Seiring berkembangnya ilmu forensik molekuler, pendekatan berbasis DNA dan biologi molekuler diusulkan untuk melengkapi atau menggantikan metode konvensional identifikasi semen. Dalam lima tahun terakhir (2019–2024), berbagai penelitian telah mengeksplorasi teknik inovatif seperti deteksi DNA kromosom Y (seperti Y-STR profiling maupun skrining gen SRY), metode amplifikasi isothermal

cepat (LAMP), penggunaan aptamer DNA yang spesifik mengikat sperma, sampai penerapan kecerdasan buatan untuk otomatisasi deteksi sperma pada citra mikroskopis. Tinjauan pustaka ini akan membahas perkembangan tersebut, termasuk kelebihan dan keterbatasannya, dalam konteks pemeriksaan forensik spermatozoa pada swab vagina.

METODE

Artikel ini disusun menggunakan desain tinjauan pustaka naratif terhadap literatur ilmiah terkini mengenai metode deteksi sperma dalam konteks forensik, namun tidak mengikuti protokol PRISMA. Sumber pustaka yang dicari mencakup publikasi primer (artikel jurnal penelitian, *review literatur*) rentang 2019–2024, baik dari jurnal internasional maupun nasional. Pencarian literatur dilakukan pada database elektronik seperti PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, dan portal Garuda (untuk publikasi Indonesia) menggunakan kata kunci bahasa Inggris dan Indonesia: *forensic semen identification, spermatozoa vaginal swab, acid phosphatase semen, PSA p30 forensic, Y-STR sexual assault, LAMP semen detection, aptamer sperm forensic, deep learning spermatozoa*, dan kombinasi terkait. Kriteria inklusi adalah sumber primer yang membahas teknik deteksi/identifikasi semen atau spermatozoa, terutama inovasi metode dalam konteks kasus seksual. Dari hasil pencarian, diseleksi sekitar 30 publikasi yang relevan; selanjutnya 15 publikasi dipilih yang paling mewakili metode konvensional dan teknologi terbaru sesuai fokus pembahasan.

Proses review dilakukan dengan membaca abstrak untuk screening awal, dilanjutkan penelusuran full-text bagi studi yang memenuhi kriteria. Data yang diekstraksi meliputi: jenis metode yang diuji, prinsip deteksi, sensitivitas dan spesifisitas yang dilaporkan, keunggulan dibanding metode lain, serta konteks penerapan forensik (misal pengujian pada sampel kasus nyata atau uji laboratorium). Informasi dari berbagai sumber kemudian dikompilasi dan dibandingkan secara deskriptif. Pada bagian Hasil, temuan literatur dikelompokkan ke dalam dua kategori utama: (1) Metode Konvensional (presumtif dan

konfirmasi tradisional), dan (2) Metode Terbaru (berbasis DNA, bioteknologi, dan AI). Pembahasan dilakukan untuk menganalisis kelebihan, kekurangan, serta potensi implementasi dari masing-masing metode tersebut dalam prosedur forensik.

HASIL PENELITIAN

1. Metode Konvensional

Pemeriksaan Mikroskopis:

Deteksi langsung spermatozoa di bawah mikroskop menggunakan sediaan apus vagina merupakan metode konfirmasi definitif yang telah digunakan lebih dari seabad. Pewarnaan Kernechtrot - Picroindigocarmine (KPC, dikenal sebagai Christmas Tree stain) atau variasi seperti Baecchi's stain (acid fuchsin & methylene blue) umum dipakai di laboratorium forensik. Dengan pewarnaan ini, kepala sperma terlihat mencolok (merah/pink) dan ekor hijau/biru, memudahkan diferensiasi dari sel epitel. Metode mikroskopis cukup spesifik untuk sperma manusia, namun memiliki sensitivitas terbatas: jika jumlah sperma pada sampel sangat rendah atau kondisi spermatozoa rusak (misal akibat waktu lama, lingkungan asam vagina), maka analisis mungkin gagal menemukannya meskipun sebenarnya semen pernah ada. Pencarian sperma secara manual di seluruh slide merupakan proses yang memakan waktu dan tenaga, terutama pada kasus negatif (tanpa sperma) yang tetap harus diverifikasi.¹

Beberapa laboratorium menerapkan metode imunositokimia, contohnya SPERM HY-LITER™ yang menggunakan antibodi monoklonal berfluor, untuk membantu visualisasi sperma secara lebih sensitif. Antibodi tersebut mengikat antigen spesifik di kepala sperma manusia dan membuatnya berfluoresensi hijau di bawah mikroskop fluoresensi, yang menyebabkan bahkan satu sel sperma pun dapat terdeteksi di antara banyak sel lain.⁶ Studi oleh Westring dkk. (2014) menunjukkan SPERM HY-LITER lebih efektif dan spesifik daripada pewarnaan histologis

tradisional (Baecchi), karena pewarnaan konvensional tidak dapat membedakan sperma manusia vs hewan dan kurang sensitif pada sampel bercampur.⁷ Keterbatasan metode mikroskopis manual mulai diatasi dengan bantuan kecerdasan buatan: Golomingi et al. (2022) melatih algoritma CNN (VGG-19) untuk mendeteksi sel spermatozoa secara otomatis pada foto digital preparat mikroskopi.⁷ Hasilnya, sistem CNN mampu mencapai akurasi identifikasi sperma di atas 90% dan secara drastis mengurangi waktu "*sperm hunting*" dibanding pencarian manual.⁶ Meskipun demikian, verifikasi oleh analis manusia tetap diperlukan untuk memastikan tidak ada false negative yang luput, mengingat konsekuensi forensik dari kesalahan semacam itu sangat serius. Dengan kata lain, AI dapat dijadikan alat bantu skrining awal yang mempercepat proses, sementara keputusan akhir keberadaan sperma tetap dikonfirmasi secara visual oleh ahli.^{8,9}

Uji Kimia Presumtif :

Uji kimia ini merupakan tes presumtif utama untuk mendeteksi jejak semen pada sampel. Asam fosfatase semen adalah enzim dari kelenjar prostat yang terdapat pada konsentrasi tinggi (sekitar 300 U/mL) dalam cairan mani. Prinsip tes AP menggunakan substrat organik (misal α -naftil fosfat) yang dihidrolisis oleh enzim menjadi naftil, lalu bereaksi dengan garam diazonium (misal Fast Blue B) menghasilkan warna ungu. Reagen Brentamine Fast Blue B dengan α -naftil fosfat adalah kombinasi klasik dalam kit AP. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna ungu dalam waktu cepat (umumnya <30 detik). Karena kadar AP dalam semen jauh lebih tinggi daripada cairan tubuh lain, tes ini sangat sensitif – bahkan bercak semen lama yang kering masih dapat memberikan hasil positif. Meski demikian, tes AP bukan konfirmatori karena adanya sumber AP non-semen.¹⁰ Vaginal Acid Phosphatase (VAP) pada cairan vagina dapat menyebabkan reaksi

serupa jika diberi waktu cukup, meskipun biasanya perubahan warnanya lebih lambat/lemah. Untuk meminimalkan false positive dari VAP, praktisi hanya menganggap valid perubahan warna yang muncul dalam rentang awal (5–30 detik). Tes AP juga rentan menurun sensitivitasnya bila sampel terpapar panas tinggi, jamur, atau kontaminan kimia. Beberapa enzim alternatif pernah diusulkan sebagai marker semen (misal leucine aminopeptidase, glycerol-3-phosphate dehydrogenase, zinc), tetapi tidak ada yang secara signifikan melampaui kepraktisan dan sensitivitas tes AP dan PSA. Secara umum, uji AP tetap menjadi skrining awal standar karena prosedurnya sederhana dan dapat diaplikasikan di lapangan dengan peralatan minimal.¹¹

Uji Prostat Spesifik Antigen (PSA/p30), PSA adalah protein ejakulat spesifik manusia yang dianggap penanda definitif keberadaan semen. Metode deteksi PSA modern menggunakan strip tes imunokromatografi (seperti test-pack kehamilan) yang mengandung antibodi anti-p30. Keunggulan uji PSA: (1) Spesifisitas tinggi – PSA hampir eksklusif terdapat pada semen (walau dapat terdeteksi jejak minimal pada cairan tubuh lain seperti sekret vagina atau ASI dalam kondisi tertentu, namun kadarnya sangat rendah relatif semen); (2) Dapat mendeteksi semen dari pria azoospermia atau vasectomy karena independen dari keberadaan sel sperma.¹² Penelitian Rich et al. (2011) melaporkan bahwa kit PSA ABACard® memiliki sensitivitas ~100% dan spesifisitas 96% dibandingkan uji kuantitatif laboratorium, untuk mendeteksi >1,0 ng PSA per swab vagina.¹³ Kadar PSA vagina biasanya turun ke ambang <1 ng/mL dalam 24-48 jam pasca hubungan, sehingga uji ini optimal untuk paparan semen yang relatif baru. Dalam konteks forensik, PSA digunakan sebagai tes konfirmasi kimia keberadaan semen, terutama saat tidak ditemukan sperma (seperti akibat oligospermia ekstrim atau sampel sudah

lama). Keterbatasan PSA adalah memerlukan waktu inkubasi (beberapa menit sampai >30 menit tergantung kit dan prosedur) dan tahap manual seperti menambahkan ekstrak sampel ke strip serta menunggu munculnya garis reaksi.¹⁴ Tsuei et al. (2019) mencatat bahwa uji PSA komersial memerlukan inkubasi ~2 jam serta pembacaan manual pada strip, sehingga relatif lambat untuk skala banyak sampel. Selain itu, biaya per test-kit cukup tinggi sehingga kurang efisien untuk skrining ratusan sampel. Oleh karenanya, penelitian terbaru mengembangkan alternatif “Y-screen” berbasis deteksi DNA pria (seperti LAMP atau qPCR spesifik-Y) yang dapat dilakukan paralel multi-sampel dan hasilnya lebih cepat.¹⁵

2. Metode DNA

Analisis DNA Y-STR:

Pendekatan profil DNA kromosom Y telah menjadi andalan dalam kasus kekerasan seksual terutama ketika campuran DNA sangat bias ke profil korban (perempuan). Y-STR (*short tandem repeat pada kromosom Y*) hanya terdapat pada laki-laki, sehingga dengan mengamplifikasi panel marker Y-STR, laboratorium dapat mendeteksi keberadaan jejak DNA pelaku laki-laki tanpa terganggu eksis DNA korban. Dalam praktiknya, ekstrak DNA dari swab vagina diuji dengan kit multiplex Y-STR (misal PowerPlex® Y23 berisi 23 lokus Y). Keberhasilan analisis Y-STR untuk mendapatkan profil laki-laki bergantung pada jumlah sel pria (sperma atau sel lain) yang tertinggal. Owers et al. (2018) melaporkan pada 250 kasus dugaan pemerkosaan tanpa spermatozoa terdeteksi mikroskop, metode Y-STR berhasil memperoleh profil DNA laki-laki pada 34% kasus menggunakan kit Y-STR terbaru (23 loci), dibanding hanya 17% kasus dengan kit Y-STR generasi lama (17 loci). Hal ini menunjukkan peningkatan jumlah loci memperbaiki peluang deteksi pria dalam sampel minim.¹⁶ Bahkan dalam skenario digital penetration (penetrasi dengan jari,

tanpa ejakulasi), jejak kulit pria dapat terdeteksi melalui Y-STR meski kemungkinan keberhasilannya lebih rendah dan bergantung waktu.¹⁶ Kelebihan lain analisis Y-STR adalah kemampuannya menghasilkan profil genetik individu yang dapat dibandingkan dengan database DNA. Namun, kekurangannya: profil Y-STR bersifat patrilineal (semua kerabat pria garis ayah memiliki profil identik pada marker Y-STR), sehingga nilai identifikasinya terbatas pada mengkonfirmasi “ada DNA laki-laki yang bukan berasal dari korban” dan mengaitkan ke kelompok kekerabatan, bukan identitas tunggal seperti autosomal STR. Meski demikian, dalam pembuktian kasus kekerasan seksual, penemuan profil Y-STR asing sudah sangat mendukung adanya kontak pria. Y-STR kini dianggap sebagai pendekatan konfirmasi sensitif, terutama bila pemeriksaan mikroskopis dan kimia tidak menemukan apa-apa tetapi dugaan korban kuat terjadi perkosaan.^{17,18}

Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP):

LAMP adalah teknik amplifikasi DNA yang bekerja pada suhu konstan (~60–65°C) menggunakan 4–6 primer spesifik target. Keunggulannya adalah kecepatan dan kemudahan, tanpa perlu thermocycler PCR. Dalam konteks deteksi semen, beberapa studi terkini menerapkan LAMP untuk skrining DNA spesifik laki-laki (“Y-screen”) pada sampel swab vagina.¹⁹ Chunkul et al. (2024) mengembangkan assay LAMP menargetkan gen AMELY (amelogenin Y) pada kromosom Y sebagai penanda pria. Uji mereka pada 92 sampel kasus asusila menunjukkan bahwa hasil LAMP sejalan dengan profil Y-STR: LAMP mampu mendeteksi 100% kasus yang positif Y-STR, dengan demikian sensitivitasnya setara Y-STR profiling. Bahkan pada beberapa sampel, LAMP terdeteksi positif sementara uji tradisional (asam fosfatase atau mikroskopi) negatif, menandakan peningkatan sensitivitas. LAMP assay tersebut divalidasi sesuai panduan

SWGDAM dan direkomendasikan sebagai alat skrining cepat materi biologis pria pada bukti kekerasan seksual.²⁰ Tsuei et al. (2019) melaporkan metode rapid colorimetric LAMP yang disebut Y-screen assay: menggunakan protokol lisis cepat 10 menit untuk melepaskan DNA sperma, lalu reaksi LAMP dengan indikator warna hydroxynaphthol blue. DNA laki-laki ada, larutan berubah warna biru yang mudah dilihat mata. Uji ini spesifik terhadap DNA pria (tidak bereaksi sampai 10 ng DNA wanita) dan sensitif sampai level ~50 pg DNA (setara <10 sel). Pada percobaan 14 sampel mock case, Y-screen LAMP berhasil mengidentifikasi semua sampel yang mengandung semen, sementara uji PSA/p30 gagal pada beberapa kasus dengan kadar rendah. Kecepatan LAMP juga unggul: seluruh proses (ekstraksi+amplifikasi) sekitar 30 menit, lebih singkat dibanding tes PSA konvensional yang butuh >2 jam. Selain itu, LAMP dapat dijalankan dalam format 96-well sekaligus tanpa detektor khusus (hasil cukup dilihat warna), sehingga cocok untuk high-throughput screening banyak barang bukti. Temuan-temuan ini menegaskan potensi LAMP sebagai metode skrining lapangan atau laboratorium untuk indikasi awal adanya DNA pelaku pria, sebelum melanjutkan ke analisis DNA forensik lengkap.²¹

3. Metode Bioteknologi dan Kecerdasan Buatan

Aptamer Berbasis Spermatozoa:

Salah satu inovasi menarik adalah penggunaan aptamer DNA untuk mendeteksi sperma. Aptamer adalah oligonukleotida rantai tunggal yang dapat dilipat membentuk struktur tersier spesifik dan memiliki afinitas tinggi terhadap target molekul tertentu (mirip antibodi, namun berupa DNA/RNA sintesis). Gooch et al. (2021) dari King's College London berhasil menyaring aptamer-aptamer ssDNA yang selektif mengikat sel spermatozoa melalui teknik *Cell-SELEX* dengan bantuan

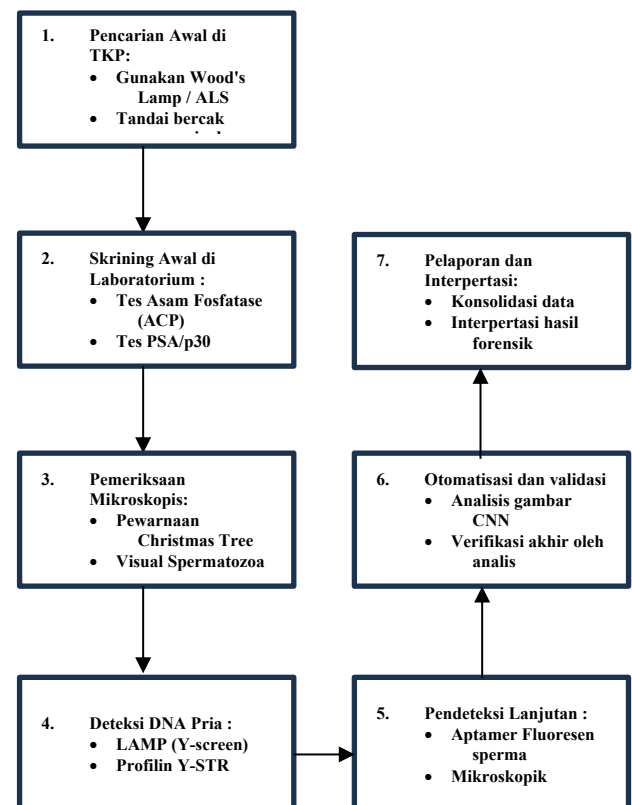
massively parallel sequencing. Setelah 14 siklus seleksi dan analisis bioinformatik, mereka mendapatkan beberapa kandidat aptamer menjanjikan yang terbukti menempel khusus pada kepala sperma dan tidak pada sel epitel atau sel darah. Uji karakterisasi (misal microscale thermophoresis dan ELONA) mengonfirmasi afinitas tinggi aptamer-aptamer tersebut terhadap sperma. Keunggulan pendekatan aptamer: molekulnya kecil dan stabil, dapat dimodifikasi dengan label fluoresen untuk visualisasi. Dalam publikasi yang sama, penulis mengemukakan bahwa teknik ini berpotensi meningkatkan efisiensi pemeriksaan kasus seksual dengan mempermudah deteksi sperma, terutama pada sampel dengan sedikit sel. Aplikasi praktisnya, aptamer berlabel fluor dapat ditambahkan ke ekstrak swab; bila ada spermatozoa, aptamer akan melekat dan membuatnya “menyala” di bawah mikroskop *fluorescence*. Hal ini serupa prinsip *SPERM HY-LITER* namun dengan ligan sintesis. Kelebihan aptamer dibanding antibodi adalah biaya produksi lebih rendah dan dapat disintesis massal dengan konsistensi tinggi. Penelitian lanjutan oleh tim Gooch (2021–2023) masih mengoptimasi spesifisitas aptamer dan metode penggunaannya, namun hasil awal cukup menjanjikan: aptamer mampu membedakan sperma manusia dari sel-sel lain dengan akurat. Di masa depan, kit deteksi sperma berbasis aptamer dapat dikembangkan sebagai alternatif pewarnaan tradisional, dengan sensitivitas dan spesifisitas lebih tinggi. Selain untuk visualisasi, aptamer juga dapat diterapkan pada kolom afinitas atau magnetic beads untuk menangkap sperma dari campuran sel (sebagai langkah membantu ekstraksi diferensial DNA). Konsep ini pernah diuji dalam riset prototipe oleh Sanders et al. (NIJ report) yang menunjukkan aptamer-biotin dapat mengaglutinasi kepala sperma pada manik streptavidin, memisahkannya dari sel epitel. Walau studi tersebut sekitar 2010-an, perkembangan teknologi

sekuensing dan kimia DNA dalam lima tahun terakhir telah mempercepat kemajuan desain aptamer efektif untuk forensic semen identification.²²

Beberapa pendekatan emerging patut disebut sebagai pelengkap. Identifikasi RNA spesifik semen (misal gen protamine 2, semenogelin mRNA) sudah mulai diterapkan di laboratorium forensik sebagai bagian multiplex body fluid identification. Demikian pula, penanda epigenetik (metilasi DNA khas sperma) sedang diteliti sebagai konfirmasi asal cairan. Namun, kedua metode ini memerlukan PCR dan analisis lab lanjutan, sehingga kurang difokuskan dalam rentang 2019–2024 dibanding LAMP dan aptamer. Metode spektral seperti Raman spectroscopy juga dilaporkan mampu membedakan noda semen secara nondestruktif melalui profil spektrogram unik. Contohnya, Wood et al. (2020) mengombinasikan uji PSA dan micro-Raman sebagai skrining cepat dan konfirmasi non-destruktif noda sperma pada TKP. Meski menarik, peralatan khusus (spektrometer Raman) membatasi penggunaannya.²¹

Integrasi beberapa teknik mungkin memberikan hasil optimal. Sebagai ilustrasi alur: petugas dapat menggunakan ALS (*Alternate Light Source*) atau *Wood's lamp* di TKP untuk mencari bercak yang berfluoresensi (dugaan semen), lalu di laboratorium melakukan tes AP dan PSA untuk memastikan ada indikasi semen. Selanjutnya, LAMP/Y-screen dijalankan pada ekstrak swab untuk mendeteksi cepat DNA pria; jika positif, dilanjutkan profil STR/Y-STR lengkap untuk identifikasi individual. Seiring itu, sediaan apus dapat diperiksa dengan aptamer fluoresen dibantu software *Convolutional Neural Networks* (CNN) guna menemukan spermatozoa secara visual dan memperkuat pembuktian. CNN diaplikasikan untuk analisis citra mikroskopis, mempercepat pencarian sperma dengan akurasi > 90%. Sistem ini

dapat mengurangi waktu analisis laboratorium, walau tetap memerlukan verifikasi oleh analisis manusia. Kombinasi demikian memanfaatkan kelebihan masing-masing metode sensitivitas molekuler dan spesifisitas morfologis sehingga probabilitas mendeteksi bukti semen sekecil apa pun menjadi maksimal.²³



Gambar 1. Diagram *Workflow* Laboratorium Forensik

Tabel 1 Sensitivitas Dan Spesifitas Metode Pemeriksaan Spermatozoa

Metode	Jenis Deteksi	Sensitivitas	Spesifisitas
Mikroskopi dengan Pewarnaan	Visual spermatozoa	70–90% (tergantung jumlah sperma)	Tinggi jika sperma utuh terlihat
Asam Fosfatase (ACP)	Enzimatis (ACP)	>90% dalam 15 detik pertama	Rendah
Prostat Specific Antigen (PSA/p30)	Imunokromatografi (PSA)	100% (>1 ng/mL PSA)	96%
Y-STR Profiling	Analisis DNA (Y-STR)	34% pada kasus tanpa sperma	Tinggi, namun tidak individual (patrilineal)
LAMP (Y-screen)	Isothermal DNA Amplification	100% (sesuai hasil Y-STR)	Tinggi, spesifik terhadap DNA pria
Aptamer Fluoresen	Binding DNA Fluoresen	Belum tersedia data kuantitatif, >90% secara visual	Tinggi, selektif terhadap kepala sperma
Convolutional Neural Network (CNN)	AI untuk analisis mikroskopis	>90% (akurasi CNN pada gambar mikroskopis)	Tinggi, tergantung dataset pelatihan

Tabel 2 Critical Appraisal Metode Deteksi Spermatozoa (2019-2024)

Kategori	Metode	Kelebihan	Keterbatasan	Aplikasi Forensik
Konvensional	Mikroskopi (<i>Christmas Tree/Baecchi stain</i>)	Konfirmasi visual langsung, spesifik untuk sperma manusia	Sensitivitas rendah bila sperma rusak/minimal; sangat bergantung keahlian analis	<i>Gold standard</i> awal, namun terbatas pada kasus dengan sperma sedikit/azoospermia
Konvensional	Asam Fosfatase (AP)	Cepat, sensitif, prosedur sederhana	Rentan <i>false positive</i> akibat enzim non-semen	Skrining lapangan, tidak konfirmatif
Konvensional	PSA/p30	Spesifik, mendeteksi semen pada azoospermia	Sensitivitas menurun setelah 24–48 jam, biaya relatif tinggi	Konfirmasi keberadaan semen meski tanpa sperma
DNA-based	Y-STR	Sensitif pada sampel bercampur, dapat dibandingkan dengan database DNA	Tidak dapat individualisasi (<i>patrilineal</i>)	Konfirmasi DNA pria meski sperma tidak ditemukan
DNA-based	LAMP (<i>Loop-mediated Isothermal Amplification</i>)	Cepat (~30 menit), sensitivitas tinggi, cocok <i>high-throughput</i>	Risiko kontaminasi, perlu validasi populasi, belum standar hukum	Skrining awal DNA pria sebelum STR penuh
Bioteknologi & AI	<i>Aptamer DNA</i>	Selektif, stabil, murah dibanding antibodi, dapat diberi label fluoresen	Masih tahap riset, belum ada kit komersial	Prospektif sebagai alternatif pewarnaan tradisional & pemisahan DNA sperma
Bioteknologi & AI	CNN (<i>Convolutional Neural Network</i>)	Akurasi >90%, mempercepat pencarian sperma, mengurangi <i>backlog</i> kasus	Butuh dataset besar, variasi kualitas preparat memengaruhi hasil, tetap perlu verifikasi manusia	<i>Decision support</i> untuk analisis mikroskopis forensik

PEMBAHASAN

Hasil tinjauan menunjukkan bahwa metode konvensional dan metode terbaru masing-masing memiliki peran penting dan tantangan dalam pemeriksaan forensik spermatozoa. Mikroskopi tradisional dengan pewarnaan histologis, meski spesifik, menghadapi tantangan saat sperma sangat jarang atau tidak utuh. Keterbatasan ini terutama krusial dalam kasus dengan waktu lapor lambat (sperma mungkin sudah rusak), pelaku oligospermia atau azospermia, serta sampel dengan dominasi sel korban. Pada kondisi tersebut, kemungkinan false negative meningkat jika mengandalkan mikroskopi saja. Uji kimia presumtif seperti AP dan PSA membantu menapis sampel dengan cepat, namun keduanya bukan tanpa kelemahan: AP rentan *false positive* (karena enzim non-spesifik) dan PSA rentan *false negative* bila interval waktu cukup lama (PSA mungkin sudah di bawah deteksi setelah 2 hari).²⁴ Selain itu, uji PSA tidak memberikan informasi apakah DNA pelaku cukup untuk profil, hanya memastikan semennya ada.

Munculnya teknologi DNA secara drastis meningkatkan kemampuan deteksi jejak biologis. Y-STR memungkinkan peneliti forensik melihat yang tak terlihat – menemukan keberadaan pria dari sampel yang secara mikroskopik “bersih”. Keberhasilan 17–34% kasus tanpa sperma mendapatkan profil Y adalah lompatan signifikan dalam sains forensik dua dekade terakhir.²⁵ Namun Y-STR memerlukan waktu dan sumber daya laboratorium (ekstraksi DNA, PCR, *sequencer*), sehingga tidak praktis untuk *screening* cepat puluhan sampel. Di sinilah LAMP dan *qPCR* berperan sebagai jembatan: keduanya dapat dijalankan segera setelah evidence diterima untuk menentukan ada/tidaknya DNA laki-laki, sehingga laboratorium dapat memprioritaskan sampel relevan. Studi Chunkul 2024 menegaskan validitas LAMP sebagai alternatif: hasil LAMP konsisten dengan

Y-STR, sehingga positif LAMP dapat menjadi indikasi kuat untuk lanjut ke STR profiling, sedangkan sampel negatif LAMP+Y-STR dapat menghemat waktu (tidak perlu pemrosesan DNA lebih lanjut).²⁰ Kendati demikian, penerapan LAMP dalam kasus nyata membutuhkan standarisasi dan pelatihan personel. Risiko *carry-over contamination* pada metode amplifikasi cepat perlu diantisipasi dengan area kerja terpisah dan mungkin penggunaan *closed tube system*. Selain itu, uji LAMP spesifik-Y harus divalidasi lintas populasi untuk memastikan tidak bereaksi dengan DNA manusia wanita atau mikroba umum. Saat ini LAMP lebih dipandang sebagai metode pelengkap, bukan pengganti, dari prosedur baku (*microscopy dan STR*).²⁶

Pendekatan aptamer dan AI merepresentasikan konvergensi forensik dengan bioteknologi canggih. Aptamer dapat dikategorikan sebagai bio-nanotechnology yang memberikan solusi atas masalah antibody (produksi mahal, rentan denaturasi). Aptamer sperma menjanjikan peningkatan spesifisitas deteksi sel sperma di antara lautan sel lain.²² Jika kelak kit aptamer terealisasi, laboratorium dapat melakukan pengecatan sediaan secara otomatis tanpa operator harus terampil melakukan pewarnaan manual. Hasil fluoresensi hijau atau merah akan menandai sperma secara jelas. Penggunaan CNN kemudian dapat melengkapi dengan analisis citra otomatis: kamera pada mikroskop merekam puluhan lapang pandang, algoritma CNN menyorot lokasi kemungkinan sperma, lalu analisis memverifikasi. Proses gabungan ini dapat mempercepat durasi pemeriksaan dari beberapa jam menjadi hitungan menit per sampel, mengurangi backlog kasus. Tantangan integrasi AI termasuk variasi kualitas slide (staining tidak seragam, artefak), sehingga model AI harus dilatih dengan dataset luas dan diversifikasi. Selain itu, keputusan akhir tetap tanggung jawab manusia ahli forensik, sehingga AI

harus dipandang sebagai decision support alih-alih pengganti peran analis.⁶

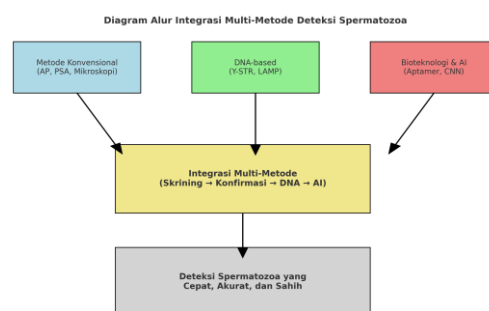
Meninjau aspek legal dan penerimaan pengadilan, metode baru harus memenuhi kriteria scientific validity dan admissibility. Y-STR sudah diakui luas di komunitas forensik internasional; beberapa yurisdiksi telah memasukkan profil Y-STR dalam database DNA pelaku kejahatan seksual.²⁷ LAMP sebagai teknik relatif baru perlu dibuktikan reproduksibel dan mempunyai tingkat kesalahan terukur sebelum dijadikan standar. Publikasi sejauh ini menunjukkan potensi besar, namun penggunaannya mungkin awalnya terbatas sebagai screening on-site (misal alat portabel di RS untuk pemeriksaan cepat rape kit). Aptamer dan CNN barangkali memerlukan waktu lebih lama sebelum diadopsi resmi keduanya butuh pembuktian konsistensi dalam ragam skenario.

Dari sudut pandang laboratorium forensik Indonesia, sebagian inovasi di atas masih dalam tahap penelitian dan belum tersedia komersial. Laboratorium forensik di Indonesia (Pusdokkes Polri atau lab DNA di universitas) saat ini mengandalkan metode konvensional plus DNA STR.^{28,29}

Tantangan umum seperti jumlah sumber daya manusia, infrastruktur, dan anggaran harus diatasi sebelum teknologi baru diimplementasikan. Meskipun demikian, pengetahuan mengenai tren global ini penting agar Indonesia dapat beradaptasi dan meningkatkan kapasitas pemeriksaan kejahatan seksual. Dengan meningkatnya kasus kekerasan seksual dan kesadaran korban melapor, kebutuhan akan deteksi semen yang cepat dan akurat kian mendesak. Adopsi metode seperti *Y-screen* LAMP atau kolaborasi riset pengembangan aptamer lokal dapat menjadi langkah strategis.

Secara keseluruhan, *literature review* 2019–2024 ini menegaskan bahwa pendekatan multi-metode (Gambar 2) adalah kunci optimal. Metode konvensional belum tergantikan sepenuhnya karena memberikan

konfirmasi visual dan kimiawi langsung, namun patut dikombinasikan dengan teknologi baru untuk meningkatkan *limit of detection*. Di masa mendatang, kita mungkin melihat kit terpadu di mana satu perangkat berisi tes kimia, LAMP, dan strip immunologis sekaligus, atau sistem mikroskop cerdas yang otomatis memadukan pewarnaan fluorescent dan deteksi AI. Ilmu laboratorium forensik untuk analisis semen terus berkembang mengimbangi tantangan kasus, dengan tujuan akhir memastikan tidak ada bukti biologis kriminal yang luput terdeteksi.



Gambar 2. Integrasi metode konvensional, DNA-based, dan bioteknologi/AI dalam pemeriksaan forensik spermatozoa. Alur multi-metode dimulai dari skrining (AP/PSA), dilanjutkan konfirmasi mikroskopis atau aptamer, pemeriksaan DNA (Y-STR/LAMP), hingga analisis AI (CNN). Pendekatan terpadu ini mendukung deteksi yang cepat, akurat, dan sahih.

KESIMPULAN

Pemeriksaan spermatozoa pada swab vagina merupakan prosedur vital dalam pembuktian kasus kekerasan seksual. Metode konvensional yang lazim saat ini – yaitu uji asam fosfatase, tes PSA, dan identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan – telah terbukti andal dan relatif mudah digunakan, namun memiliki keterbatasan pada skenario jumlah sperma sangat sedikit, sampel bercampur sel korban, atau pelaku azoospermia. Hasil tinjauan literatur menunjukkan perkembangan pesat teknologi deteksi sperma dalam lima tahun terakhir untuk menjawab keterbatasan tersebut. Teknik LAMP dan skrining DNA Y-STR mampu mendeteksi keberadaan material genetik pria dengan sensitivitas yang melampaui metode kimia konvensional, bahkan mendekati metode DNA profil penuh.

Metode aptamer menawarkan cara baru yang spesifik dan cepat untuk menandai sel sperma, berpotensi mengurangi risiko hasil negatif palsu akibat pewarnaan kurang sensitif. Sementara itu, penerapan kecerdasan buatan (CNN) dalam analisis mikroskopis dapat memangkas waktu pencarian sperma secara signifikan dan membantu laboratorium mengatasi backlog kasus. Semua inovasi ini, bila terverifikasi dan diimplementasikan dengan baik, akan meningkatkan akurasi maupun efisiensi deteksi spermatozoa dalam konteks forensik.

Dapat disimpulkan bahwa pendekatan terpadu yang memanfaatkan keunggulan setiap metode adalah strategi terbaik. Uji presumtif (ACP, PSA) tetap dipakai untuk skrining cepat di lapangan, dilanjutkan konfirmasi visual (mikroskopi/aptamer) dan molekuler (LAMP, Y-STR) di laboratorium. Kombinasi ini memastikan bahwa bukti biologis berupa semen tidak terlewat, sekaligus memberikan data pembuktian yang kuat (baik dari sisi visual keberadaan sperma maupun profil DNA pelaku). Pengembangan lebih lanjut dan uji validasi perlu dilakukan terhadap teknologi LAMP dan aptamer agar memenuhi standar pembuktian ilmiah di pengadilan. Peningkatan kapasitas laboratorium forensik, termasuk pelatihan personel dalam menggunakan metode baru, serta menjadi faktor penentu suksesnya adopsi inovasi. Dengan demikian, kemajuan metode pemeriksaan spermatozoa ini diharapkan berkontribusi pada penanganan kasus kekerasan seksual yang lebih cepat, akurat, dan berkeadilan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Sultan Ageng Tirtayasa atas fasilitas dan bantuan akademik selama proses penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gooch J, Tungsirisurp S, Costanzo H, Napier R, Frascione N. Generating aptamers towards human sperm cells using massively parallel sequencing. [cited 2025 Jun 18]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03562-7>
2. Chunkul S, Sathirapatya T, Dangklao P, Kawicha P, Tammachote R, Vongpaisarnsin K. Enhancing the forensic sexual assault investigations with LAMP-based male DNA detection. *Forensic Sci Int*. 2025 Jun 1;10:100567.
3. Owers R, McDonald A, Montgomerie H, Morse C. A casework study comparing success rates and expectations of detecting male DNA using two different Y-STR multiplexes on vaginal swabs in sexual assault investigations where no semen has been detected. *Forensic Sci Int Genet*. 2018 Nov 1;37:1–5.
4. Saumana DTI. Analisa Perbandingan Sensitivitas PSA dan Mikroskopik Sperma Untuk Pembuktian Adanya Tanda-tanda Kekerasan seksual Pada Kasus Kekerasan Seksual = Comparative Analysis The Sensitivity of PSA And Sperm Microscopic in Proving The Presence Of Rape Signs In Sexual Violence Case. 2024 Apr 18;
5. Adhayati B, Hermawati L, Furqoni AH, Humaniora D, Medikolegal D, Kedokteran F, et al. Touch Dna Dalam Penerapan Ilmu Forensik: Tinjauan Literatur. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan* [Internet]. 2025 May 29 [cited 2025 Jun 20];12(5):1109–17. Available from: <https://ejournalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan/article/view/20611>
6. Golomingi R, Haas C, Dobay A, Kottner S, Ebert L. Sperm hunting on optical microscope slides for forensic analysis with deep convolutional networks – a feasibility study. *Forensic Sci Int Genet*. 2022 Jan 1;56:102602.
7. Mousawi F, Haidar M, Al Otaibi D. Conventional Serological and Microscopic Techniques for Human Body Fluid Detection. *Advances in Forensic Biology and Genetics* [Internet]. 2025 [cited 2025 Jun 18];23–45. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-96-4585-5_2
8. Soares MAC, Falci DHM, Farnezi MFA, Farnezi HCM, Parreiras FS, Gomide JVB. Automated Sperm Head Morphology Classification with Deep Convolutional Neural Networks. *Proceedings - 2022 35th Conference on Graphics, Patterns, and Images, SIBGRAPI 2022*. 2022;270–5.

9. Urli S, Corte Pause F, Dreossi T, Crociati M, Stradaoli G. Evaluation of an artificial intelligence system for bull sperm morphology evaluation. *Theriogenology*. 2025 Oct 1;245:117504.
10. Lyle Curry B, Laura Heathfield S. The evaluation of tests for the identification of semen. 2016 [cited 2025 Jun 18]; Available from: <https://open.uct.ac.za/handle/11427/20288>
11. Rathod N V. International Medico-Legal Reporter Journal Literature Review: Forensic Analysis or Identification of Semen. 2021 [cited 2025 Jun 18]; Available from: www.legaldesire.com/forensics
12. Budiningsih Y, Widiatmaka W. The validity of rapid test to detect prostate-specific antigen (PSA) in seminal fluid.
13. Guida J, Fukunaga A, Liu H. Biomarker validation of self-reported sex among middle-aged female sex workers in China. *Ann Epidemiol*. 2017 Mar 1;27(3):181-186.e1.
14. Gamblin AP, Morgan-Smith RK. The characteristics of seminal fluid and the forensic tests available to identify it. *WIREs Forensic Science*. 2020 May;2(3).
15. Scott A, Jackson K, Carter M, Comeau R, Layne T, Landers J. Rapid sperm lysis and novel screening approach for human male DNA via colorimetric loop-mediated isothermal amplification. *Forensic Sci Int Genet*. 2019 Nov 1;43:102139.
16. Owers R, McDonald A, Montgomerie H, Morse C. A casework study comparing success rates and expectations of detecting male DNA using two different Y-STR multiplexes on vaginal swabs in sexual assault investigations where no semen has been detected. *Forensic Sci Int Genet*. 2018 Nov 1;37:1–5.
17. Kim TY, Zhu X, Kim SM, Lim JA, Woo MA, Lim MC, et al. A review of nucleic acid-based detection methods for foodborne viruses: Sample pretreatment and detection techniques. *Food Research International*. 2023 Dec 1;174.
18. Costa R, Fadoni J, Amorim A, Cainé L. Y-STR Databases-Application in Sexual Crimes. 2025 [cited 2025 Jun 18]; Available from: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
19. Scott A, Jackson K, Carter M, Comeau R, Layne T, Landers J. Rapid sperm lysis and novel screening approach for human male DNA via colorimetric loop-mediated isothermal amplification. *Forensic Sci Int Genet*. 2019 Nov 1;43:102139.
20. Chunkul S, Sathirapatya T, Dangklao P, Kawicha P, Tammachote R, Vongpaisarnsin K. Enhancing the forensic sexual assault investigations with LAMP-based male DNA detection. *Forensic Sci Int*. 2025 Jun 1;10:100567.
21. Scott A, Jackson K, Carter M, Comeau R, Layne T, Landers J. Rapid sperm lysis and novel screening approach for human male DNA via colorimetric loop-mediated isothermal amplification. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2025 Jun 18];43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31487605/>
22. Gooch J, Tungsirisurp S, Costanzo H, Napier R, Frascione N. Generating aptamers towards human sperm cells using massively parallel sequencing. *Anal Bioanal Chem* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2025 Jun 18];413(23):5821. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8437879/>
23. Tay JW, Joudo J, Tran T, Ta H, Botting JL, Liew YC, et al. Comparison of Crime-lite® 82S, Polilight® PL400 and Polilight® PL500 for the detection of semen and saliva stains. *Australian Journal of Forensic Sciences*. 2021;53(4):483–93.
24. Gooch J, Tungsirisurp S, Costanzo H, Napier R, Frascione N. Generating aptamers towards human sperm cells using massively parallel sequencing. [cited 2025 Jun 18]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03562-7>
26. Soroka M, Wasowicz B, Rymaszewska A. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): The Better Sibling of PCR? *Cells* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2025 Jun 19];10(8):1931. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8393631/>
27. Costa R, Fadoni J, Amorim A, Cainé L. Y-STR Databases-Application in Sexual Crimes. 2025 [cited 2025 Jun 19]; Available from: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
28. Buku Referensi Pemeriksaan Forensik DNA Tulang dan Gigi. 2020;
29. Ratna Pertiwi K. Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik.