

APLIKASI miRNA SEBAGAI BIOMARKER IDENTIFIKASI PADA INVESTIGASI FORENSIK

Ni Luh Putu Eka Kartika Sari^{1*}, Vira Saamia², Novitasari³, Mala Kurniati⁴

¹Departemen Fisiologi dan Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa, Indonesia

²Pusat Laboratorium Forensik, Indonesia

³ Kelompok Penelitian Elektromedis Pusat Riset Teknologi Pengujian dan Standar, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Indonesia

⁴Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Malahayati, Lampung, Indonesia.

^{*})Email Korespondensi: kartikadharna@gmail.com

Abstract: The Use of miRNAs As Identification Biomarkers in Forensic Investigations. *MicroRNA (miRNA) is a non-coding RNA molecule containing 18-24 nucleotides which is highly conserved and miRNA known involved in the regulation of many biochemical mechanisms in the human body. Several studies have shown that miRNAs can act as markers in various forensic identifications in identifying timing of death, body fluids, wound vitality, and other forensic fields. miRNAs in body fluids and tissues are known to be elevated due to altered pathophysiology. The study of miRNAs in the forensic field is interesting because of their stability and specificity so that it can definitively answer important information needed for investigation and prosecution, such as the origin of the sample fluid being examined. The characteristics of miRNA as a forensic molecular marker are in line with its resistance to degradation so that it is suitable as an endogenous marker. However, the lack of protocols in scientific forensic testing and the lack of studies on these molecular markers in forensic biology require analysis of the scientific literature regarding the forensic use of miRNAs.*

Keywords : miRNA, forensic, molecular marker

Abstrak: Aplikasi Mirna Sebagai Biomarker Identifikasi Pada Investigasi Forensik. Mikro RNA (miRNA) adalah molekul RNA non-coding yang mengandung 18-24 nukleotida yang sangat terkonservasi dan terlibat dalam pengaturan banyak mekanisme biokimia dalam tubuh manusia. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa miRNA dapat bertindak sebagai penanda dalam beragam identifikasi forensik dalam mengidentifikasi penentuan waktu kematian, cairan tubuh, vitalitas luka, dan bidang forensik lainnya. miRNA dalam cairan tubuh dan jaringan diketahui meningkat akibat patofisiologi yang berubah. Studi tentang miRNA pada bidang forensik menjadi hal menarik ditelusuri karena stabilitas dan spesifisitasnya sehingga dapat menjawab secara definitif informasi penting yang diperlukan untuk penyelidikan dan penuntutan, seperti asal cairan sampel yang diperiksa. Karakteristik miRNA sebagai penanda molekuler forensik selaras dengan ketahanannya terhadap degradasi sehingga cocok sebagai penanda endogen. Namun, kurangnya protokol dalam pengujian forensik secara ilmiah dan rendahnya studi pada penanda molekuler ini dalam biologi forensik memerlukan analisis literatur ilmiah mengenai penggunaan forensik miRNA.

Kata Kunci: miRNA, forensic, molecular forensic

PENDAHULUAN

Mikro RNA (miRNA) merupakan molekul RNA kecil yang terlibat dalam berbagai bentuk proses seluler dasar termasuk pada proses proliferasi, diferensiasi dan kematian sel (Harfe, 2005). miRNA ditemukan sebagai gen supresor yang memiliki banyak fungsi dan tersebar pada berbagai ekspresi gen manusia. Panjang miRNA adalah 21-26 nukleotida, nukleotida ini menyebabkan peredaman ekspresi gen melalui interaksi urutan homolog (Bartel & Chen, 2004). Proses biogenesis miRNA pada sistem tubuh manusia melibatkan jalur protein yang sangat kompleks melalui komplekmenter yang tidak sempurna dengan messenger RNA (mRNA) dari gen penyandi protein dan regulasi transkripsi atau pasca transkripsi (Rajewsky, 2006), (Lim et al., 2005), (Griffiths-Jones et al., 2006). Jumlah miRNA manusia dilaporkan oleh Sanger Institute (2006) sebanyak lebih dari 450. dua kali dari perhitungan awal, namun tidak menutup kemungkinan masih ada 1000 miRNA yang sedang dikonfirmasi keberadaannya di dalam mekanisme molekuler gen manusia (Lagos-Quintana et al., 2001).

Penemuan dan ketertarikan molekuler terhadap fungsi miRNA ini telah dimulai sejak tahun 1993 dengan ditemukannya miRNA Lin-4 oleh Lee et al (Lau et al., 2001), (Etheridge et al., 2011). Sejak saat itu dunia biomedis menemukan analisis miRNA memainkan peranan penting dalam patologi dan spesifik jaringan dengan miRNA tertentu berkorelasi dengan berbagai penyakit. Titik ini menjadi jalam mula identifikasi miRNA sebagai biomarker penting dalam mendiagnosis suatu gangguan metabolisme yang berimplikasi terhadap munculnya suatu penyakit (Wegman & Krylov, 2013), (Hanson et al., 2009), (Hannon, 2002). Fungsi dan cakupan miRNA yang bertindak sebagai biomarker penting dilanjutkan pada berbagai bidang molekuler, tidak hanya terbatas pada kesehatan. Salah satunya adalah identifikasi dalam investigasi forensik. Hanson et al (2009) memulai perjalanan miRNA sebagai biomarker forensik dengan mengidentifikasi cairan

tubuh forensik (*Body Fluid Identifiatiion*, BFID) melalui miRNA spesifik yang hanya ditemukan pada cairan tertentu tubuh manusia (Hanson et al., 2009). Selain itu, protein Argonaut pada miRNA merupakan komponen katalitik kompleks RISC (*RNA induced silencing complex*) yang bertanggung jawab dalam proses biologis RNA pengganggu (Hutvagner & Simard, 2008), (Várallyay & Havelda, 2013), (Courts & Madea, 2011). Hubungan protein tersebut dalam struktur miRNA membuat miRNA menjadi lebih stabil dari proses degradasi jika dibandingkan dengan mRNA. Kerentanan akan degradasi ini selalu menjadi masalah dalam setiap pemeriksaan sampel dalam identifikasi forensik berdasarkan molekuler (An et al., 2012), (Khaldi et al., 2004).

Meskipun miRNA memiliki fungsi dan kekhasan yang dapat menjadi petunjuk identifikasi forensik, ruang lingkup penelitian, validasi serta aplikasinya dalam bidang forensik masih sangat terbatas. Demikian pula penggunaan miRNA belum dapat diimplementasikan dalam investigasi forensik secara aktif atau protokol laboratorium forensik. Perkembangan teknologi identifikasi forensik saat ini memerlukan upaya signifikan dalam mengungkap metode terbaru untuk mengatasi tantangan, sebagai contoh adalah mengidentifikasi cairan tubuh. miRNA dengan segala fungsi dan kekhasannya memerlukan studi dan validasi untuk mengungkapkannya kandidat aplikasi profil miRNA.

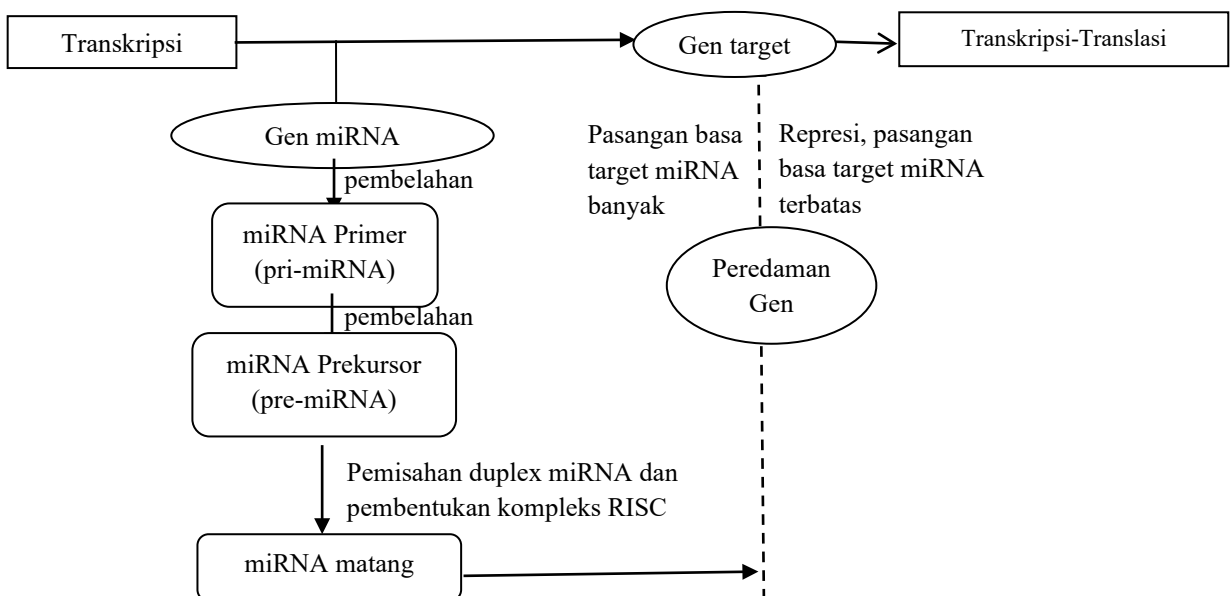
miRNA dan FUNGSI IDENTIFIKASI dalam BIDANG FORENSIK

Penggunaan pendekatan *scientific* dalam mengungkap suatu tindak kriminalitas semakin sering dilakukan, seiring dengan pengembangan teknologi molekuler pada bidang forensik. Berbagai upaya dilakukan untuk mengembangkan proses dan metode dalam mengidentifikasi dan investigasi tindak kriminal. Salah satu perkembangan identifikasi molekuler dalam bidang forensik adalah upaya mencari penanda

molekuler, seperti DNA, RNA, bahkan protein. Pada masa sebelumnya, mRNA dipercaya menjadi kandidat yang cocok untuk mengidentifikasi cairan tubuh. mRNA diketahui diekspresikan secara spesifik dengan pola ekspresi yang khas sehingga dapat mengkonfirmasi cairan tubuh tertentu, bahkan setelah jangka waktu lama pada kondisi terkontrol (Tobe et al., 2007),(Myers & Adkins, 2008),(Vennemann & Koppelkamm, 2010). Namun, berjalannya penelitian menunjukkan bahwa mRNA sangat rentan terhadap degradasi dan oleh karena itu tidak selalu cocok untuk semua sampel yang relevan secara forensic (Haas et al., 2013),(Setzer et al., 2008). Stabilitas mRNA sebagai biomarker yang spesifik dan sensitif untuk aplikasi forensik ini dapat rusak oleh kelembaban, panas, sinar ultraviolet dan ribonuclease (Zubakov et al., 2010),(Calin & Croce, 2006). Hal ini mengingatkan sampel yang digunakan selalu berada dalam kondisi yang terpapar lingkungan dengan tingkat degradasi yang tinggi. Kondisi tersebut menjadikan tantangan bagi dunia forensik dalam mengidentifikasi sampel yang tertinggal di TKP. Metode

serologi konvensional dalam mengidentifikasi cairan tubuh selama ini memiliki banyak keterbatasan seperti jumlah konsentrasi sampel, pemeriksaan yang menjadi lebih kompleks sehingga memerlukan tenaga kerja dan waktu yang tidak efisien (Bexon & Acfs, 2017),(Teresa & Machado, 2015).

miRNA merupakan RNA *non coding* sepanjang 21-26 nukleotida. miRNA ini mengontrol ekspresi gen pasca transkripsi dengan urutan target homolog. Mekanisme pengaturan ekspresi gen dengan miRNA telah secara *conserved* dan berlimpah diekspresikan pada banyak area (Esau et al., 2006). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa terdapat 1-3% miRNA pada manusia dan sebanyak 30% miRNA tersebut mengkode protein fungsional penting. Penemuan ini menjelaskan miRNA terbukti memainkan peran luas dalam banyak proses, termasuk perkembangan, diferensiasi sel, apoptosis, dan respon imun. Studi terbaru menunjukkan bahwa miRNA berpartisipasi dalam proses metabolisme (Esau et al., 2004),(Bartel, 2018).



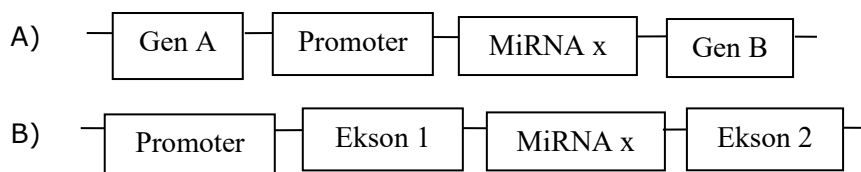
Gambar 1. Skema mekanisme miRNA dalam peredaman gen

Secara umum fungsi miRNA dapat digambarkan melalui skema gambar 1. Gen miRNA matang melalui dua kali pembelahan pada proses transkripsi.

Pembelahan pertama akan menghasilkan miRNA primer (pri-miRNA) dan pembelahan kedua akan menghasilkan miRNA precursor (pre-miRNA) melalui dua enzim utama, yaitu Drosha dan Dicer. Prekursor miRNA menyebabkan pemisahan dupleks miRNA dan pembentukan kompleks RISC. Hal ini menyebabkan miRNA menjadi matang dan memicu terjadinya peredaman gen. Peredaman gen tersebut berpengaruh terhadap lokasi target pengenalan bergantung terhadap banyaknya pasangan basa target yang berpasangan dengan nukleotida miRNA (Manetti, n.d.), (O'Brien et al., 2018), (Anantharaman et al., 2002).

Kompleks RISC pada manusia diketahui memiliki 8 kelas yang terdiri

dari 4 protein Argonat (Ago 1-4). Studi analisis genomik menunjukkan bahwa protein ini berpengaruh terhadap inisiasi translasi sebagai faktor inisiasi translasi. Ago adalah protein dengan fungsi katalitik yang dapat menyebabkan pembelahan mRNA. Hal ini terjadi karena dupleks miRNA akan bergabung dengan protein Ago untuk menghasilkan kompleks peredaman yang diinduksi RNA (RISC) dan menyebabkan miRNA terdegradasi atau pemblokiran translasi mRNA meskipun hingga sekarang mekanisme peredaman secara detail pada gen target masih belum dapat dijelaskan (Wong et al., 2016), (Rana, 2007). Secara sederhana jalur dominan biogenesis miRNA dan lokasi pada gen target seperti pada gambar 2.



Gambar 2. Lokasi gen miRNA pada genom

Lokasi gen miRNA dan fungsi biogenesis gen tersebut dalam sel menyebabkan keberadaan miRNA ditemukan spesifik di hampir seluruh jaringan dan cairan tubuh manusia (Tavazoie et al., 2008), (Sood et al., 2006). Studi terbaru menjelaskan bahwa peran penting miRNA berpengaruh dalam fungsi fisiologis dan patogenesis. Beberapa jenis miRNA telah berhasil direlasikan sebagai penanda untuk kejadian penyakit, seperti kanker (Liang et al., 2007), (Hui et al., 2009). Penanda ini menjadi lebih menarik untuk digunakan karena secara teori fragmen nukleotida miRNA yang lebih pendek dan ekspresi miRNA spesifik jaringan tersebut menyebabkan lebih sedikit rentan terhadap degradasi karena faktor kimia atau fisik. Hal ini dibuktikan oleh penelitian dengan menggunakan ekstraksi sampel jaringan *formalin-fixed paraffin-embedded* (FFPE) menghasilkan *profiling* yang layak dan valid (Tanić et al., 2015). Laboratorium forensik pada

beberapa tahun terakhir menelaah peran ekspresi miRNA dan metode potensial dalam mengungkap berbagai kasus identifikasi dengan menggunakan analisis ekspresi miRNA spesifik hingga skrining sekuensing (Z. Wang et al., 2012), (Y. Li et al., 2011).

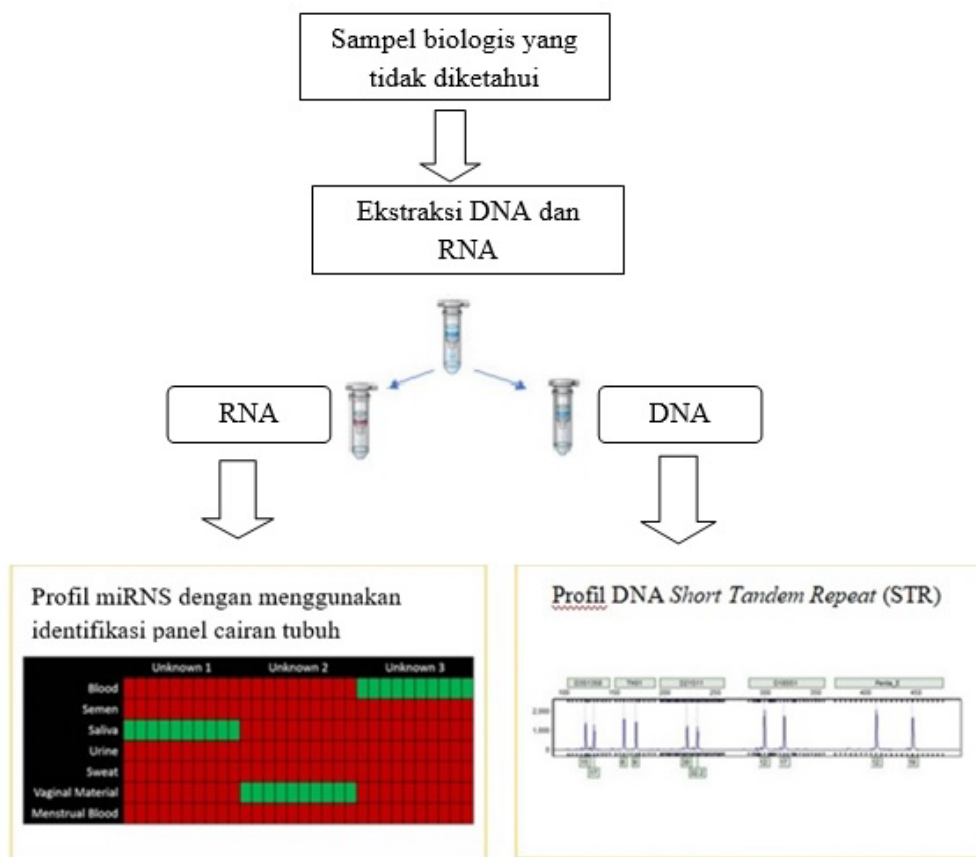
miRNA dalam APLIKASI IDENTIFIKASI CAIRAN TUBUH

Penentuan cairan tubuh yang digunakan dalam identifikasi forensik merupakan langkah awal yang dilakukan dan penting agar dapat menentukan metode yang tepat. Uji konfirmasi cairan tubuh tersebut selama ini memiliki banyak keterbatasan karena berdasarkan kimia, proses enzimatik atau imunologi meskipun sensitivitasnya baik namun memiliki spesifitas yang terbatas. Beberapa uji konfirmasi selama ini dengan menggunakan *body fluid identification* (BFID) cepat umumnya dapat merusak sampel,

adanya reaktivitas silang dengan cairan tubuh lain dan juga munculnya positif palsu. Bahkan beberapa jenis cairan tubuh masih belum memiliki protokol pengerjaan yang jelas sedangkan uji konfirmasi cairan tubuh sumber profil DNA sangat diperlukan dalam penyelidikan forensik karena mampu mengungkapkan keadaan suatu tindakan, peristiwa, membuktikan keterangan korban atau tersangka atau saksi (Virkler & Lednev, 2009).

Cairan tubuh yang relevan dapat ditemukan banyak di lokasi kejadian kejahatan, seperti air mani, darah, air liur, cairan urin dan vagina. Profil

miRNA untuk identifikasi cairan tubuh secara teori yang menguntungkan dalam penggunaan forensik dapat diaplikasikan sejalan dengan identifikasi profil DNA. Hal ini mengingat sampel forensik seringkali sangat kecil sehingga dalam pengujian identifikasi DNA tidak tersisa lagi sampel. Namun, metode miRNA sebagai uji konfirmasi cairan tubuh dapat dilakukan dengan hanya menggunakan sampel secara paralel dengan cara koekstraksi. Skema alir kerja berikut menjelaskan pemeriksaan paralel untuk identifikasi miRNA cairan tubuh dengan DNA (Haas et al., 2013),(Setzer et al., 2008).



Gambar 3. Skema alur kerja pemeriksaan paralel miRNA dan STR DNA (Glynn, 2020)

Banyak penelitian terbaru berfokus pada skrining jenis miRNA yang menjadi kandidat penanda dalam menentukan cairan tubuh dalam bidang forensik. Tahap penting dalam analisis cairan tubuh tersebut adalah kemampuan

dalam memperoleh kuantitas dan kualitas miRNA dari sampel yang didapatkan. Adapun jenis sampel yang umum ditemukan di lokasi tempat kejadian perkara adalah darah vena, darah menstruasi, semen, saliva dan

urin (O`Leary & Glynn, 2018),(Watanabe & Akutsu, 2020).

Studi pertama kali tentang identifikasi cairan tubuh dengan menggunakan miRNA dilakukan oleh Hanson dkk (2009). Studi tersebut melakukan skrining miRNA pada cairan tubuh darah, semen, saliva, sekresi vagina dan darah menstruasi. Hasil ekspresi normal dari masing-masing miRNA menunjukkan pola ekspresi spesifik cairan tubuh yang dapat dijadikan penanda dalam identifikasi cairan tubuh (Hanson et al., 2009). Penelitian tentang miRNA sebagai penanda cairan tubuh kemudian

dilakukan pula oleh Zubakov dkk (2010) dengan melakukan skrining pada 718 penanda miRNA yang relevan secara forensik menggunakan platform *microarray* yang komprehensif (Zubakov et al., 2010). Hasil ekspresi identifikasi beberapa penanda miRNA meningkat secara berlebihan pada darah vena dan semen. Selain itu, penanda miRNA tidak rentan terhadap degradasi pada sampel yang telah disimpan selama satu tahun (Z. Wang et al., 2015),(Dumache et al., 2015). Tabel 1 adalah rangkuman miRNA hasil skrining pada penelitian yang telah dilakukan.

Tabel 1. Jenis penanda miRNA pada tiap cairan tubuh

Cairan tubuh	Mikro RNA	Metode	Referensi
Darah Vena	miR-16-5p	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-144-3p	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	(Zubakov et al., 2010)
	miR-451a-5p	Taqman qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-16	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-451	TaqMan® assays	(Sirker et al., 2017), (Z. Wang et al., 2013)
	miR-20a	Taqman Array	(Sirker et al., 2017), (Z. Wang et al., 2013)
	miR-106a, miR-185, miR-144, miR-142-3p, miR-126	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i> Taqman qPCR	(Z. Wang et al., 2013)
	miR-150	Quantifiler® Trio DNA	(Zubakov et al., 2010)
	miR-150	GlobalFiler™ PCR	(Zubakov et al., 2010)
	miR-150	SYBR Qpcr	(Courts & Madea, 2011)
Saliva	miR486	SYBR Qpcr	(Courts & Madea, 2011)
	miR-200c-3p	Taqman Array	(Z. Wang et al., 2013)
	miR-200c-3p	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009), (Courts & Madea, 2011)
	miR-203a-3p	SYBR qPCR	(Courts & Madea, 2011)
	miR-203a-3p	Quantifiler Human DNA	(Van der Meer et al., 2013)
	miR-205-5p	Quantifiler1 Human DNA	(Sauer et al.,

		Quantifiler Human DNA	2016)
	miR-223-3p		(van der Meer et al., 2013)
	miR-658	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	(Zubakov et al., 2010)
	miR-583	Taqman qPCR	(Zubakov et al., 2010)
	miR-158c	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	(Zubakov et al., 2010), (Z. Wang et al., 2013)
	miR-208b	Taqman qPCR	(Zubakov et al., 2010); (Z. Wang et al., 2013)
	miR-138-2		(Zubakov et al., 2010)
Semen	miR-10a-5p	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides</i>	(Zubakov et al., 2010)
	miR-888-5p	Taqman qPCR	(Z. Wang et al., 2013)
	miR-891a-5p	Taqman qPCR	(Z. Wang et al., 2013)
	miR-135b	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-10b	SYBR qPCR, Quantifiler® Trio DNA Quantification, GlobalFiler™ PCR	(Hanson et al., 2009), (Sauer et al., 2016), (Mayes et al., 2018)
	miR-943		(Zubakov et al., 2010), (Sirker et al., 2017)
	miR-135a	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	(Zubakov et al., 2010), (Sauer et al., 2016)
	miR-10a	Quantifiler1 Human DNA	(Zubakov et al., 2010), (Sauer et al., 2016)
	miR-507	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	(Zubakov et al., 2010)
	miR-943	Quantifiler1 Human DNA	(Zubakov et al., 2010), (Sirker et al., 2017)
		<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides</i>	(Zubakov et al., 2010), (Sirker et al., 2017)
		<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	
		Taqman Array	
Sekresi Vagina	miR-124-3p	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-155-5p	Quantifiler1 Human DNA	(Sauer et al., 2016)
	miR-1260b	Taqman qPCR	(Z. Wang et al., 2013)
	miR-3685	Quantifiler1 Human DNA	(Sauer et al., 2016)
	miR-124a	SYBR qPCR, Taqman qPCR	(Hanson et al., 2009), (Z. Wang et al., 2013)
	miR-372	SYBR qPCR, <i>Microarray LNA™-modified</i>	(Hanson et al., 2009), (Z. Wang et al., 2013)

	miR-617	<i>oligonucleotides</i>	et al., 2013)
	miR-891a	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides</i>	(Hanson et al., 2009), (Zubakov et al., 2010) (Zubakov et al., 2010)
		SYBR qPCR, <i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides</i>	(Hanson et al., 2009), (Zubakov et al., 2010)
Darah Menstruasi	miR-451	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-415a	Quantifiler1 Human DNA	(Sauer et al., 2016)
	miR-412	SYBR qPCR	(Hanson et al., 2009)
	miR412-3p	Taqman Array, Quantifiler® Trio DNA Quantification, GlobalFiler™ PCR	(Hanson et al., 2009)
	miR-185	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides,</i>	(Sirker et al., 2017), (van der Meer et al., 2013)
	miR-144	Quantification, GlobalFiler™ PCR	(Zubakov et al., 2010), (van der Meer et al., 2013)
	miR-144-3p	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides</i>	(Zubakov et al., 2010)
	miR-144-5p	<i>Microarray LNA™-modified oligonucleotides</i>	(Sauer et al., 2016)
	miR-214	Quantifiler1 Human DNA	(Sauer et al., 2016)
			Quantifiler1 Human DNA
		Taqman qPCR	(Z. Wang et al., 2013)

Zubakov dkk juga menjelaskan bahwa studi tersebut tidak berhasil mengkonfirmasi kandidat miRNA pada sampel saliva, darah menstruasi dan sekresi vagina. Hal ini diduga karena metode deteksi yang digunakan adalah *Microarray LNA™-modified oligonucleotides* yang tidak dapat membedakan miRNA *mature* (Zubakov et al., 2010). Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode dan varian platform *microarray* miRNA penting dalam menghasilkan kandidat penanda yang sesuai dan efisien dalam amplifikasi. Penggunaan metode dan kandidat miRNA yang tepat menjadi langkah awal dalam penggunaan miRNA dalam identifikasi forensik. Tabel 1 merangkum beberapa kandidat miRNA yang telah berhasil dipetakan oleh studi array pada masing-masing sumber sampel cairan tubuh. Kandidat miRNA

dan metode yang digunakan telah mampu mengidentifikasi miRNA spesifik cairan tubuh tertentu.

miRNA SEBAGAI PENANDA WAKTU KEMATIAN

Pada bidang forensik estimasi interval postmortem menjadi hal penting yang harus diketahui secara akurat untuk menginvestigasi kasus tindak kriminal. Secara umum, estimasi interval ini dibagi menjadi dua, yaitu interval dini postmortem (EPMI) yang dapat dilakukan dalam 24 jam setelah kematian dan estimasi postmortem tingkat lanjut yang dilakukan lebih dari 24 jam setelah kematian (Brooks, 2016). Adapun pemeriksaan yang digunakan selama ini dalam menentukan estimasi interval postmortem adalah mengukur perubahan fisiologis algor, livor dan rigor mortis serta reaksi supravital.

Permasalahan dalam metode karena pemeriksaan ini belum mampu secara efisien memperkirakan estimasi waktu kematian (Wilson & Christensen, 2017). Selain itu, perkiraan estimasi ini hanya dapat dilakukan pada EPMI dalam waktu 24 jam setelah kematian. Pada kasus estimasi interval postmortem (EPMI) pemeriksaan klasik ini belum dapat dilakukan (Myburgh et al., 2013). Pemeriksaan estimasi interval postmortem pada kematian setelah 24 jam selama ini menjadi suatu tantangan tersendiri karena perubahan suhu mayat hingga mencapai ambient, kelembaban, dan kerusakan akibat mikroorganisme yang menyebabkan sulitnya menentukan waktu kematian (Flissak et al., 2018).

Beberapa penelitian tentang miRNA menyebabkan banyak peneliti tertarik menjadikan miRNA sebagai kandidat penanda dalam menentukan estimasi interval postmortem, khususnya pada kasus kematian lebih dari 24 jam. Hal ini berdasarkan kestabilan miRNA terhadap gangguan

eksternal seperti degradasi molekul nukleotida akibat suhu dan kelembaban ekstrim (Brooks, 2016), (Wilson & Christensen, 2017). Tu dkk (2019) berhasil merumuskan model matematis untuk menghitung degradasi RNA sebagai penanda estimasi interval postmortem tingkat lanjut. Model matematis ini memiliki relevansi dan presisi dalam penetapan interval postmortem sehingga potensial dapat digunakan dalam investigasi forensik. Meskipun model matematis tersebut memerlukan validasi pada kondisi di TKP secara nyata (Tu et al., 2019). Penelitian lain juga melaporkan bahwa terjadi peningkatan ekspresi miRNA dari berbagai variasi waktu. Selaras itu penelitian lain juga menemukan bahwa adanya variasi pola degradasi yang khas pada tiap variabel waktu perlakuan (Mohammed et al., 2018), (Alshehhi & Haddrill, 2019). Tabel 2 adalah rangkuman miRNA hasil skrining pada penelitian yang telah dilakukan untuk estimasi interval kematian.

Tabel 2. Jenis Penanda Skrining miRNA dalam Estimasi Interval Kematian

Sumber sampel	Mikro RNA	Jaringan/Organ	Hasil	Referensi
postmortem	miRNA-205	kulit	ekspresi meningkat meskipun tidak berkorelasi dengan interval postmortem	(Ibrahim et al., 2019)
	miRNA-21	kulit	ekspresi meningkat meskipun tidak berkorelasi dengan interval postmortem	(Ibrahim et al., 2019)
	miRNA-9	otak	ekspresi meningkat meskipun tidak berkorelasi dengan interval postmortem	(Lv et al., 2014)
	miRNA-122	miokardium, otak, liver	ekspresi stabil	(Lv et al., 2014)
	miRNA-125b	otak	degradasi pada suhu tinggi	(Lv et al., 2017)
	miRNA-1	miokardium, liver, otak	stabil ekspresi	(Lv et al., 2017)
	miRNA-133a	miokardium, liver, otak	stabil ekspresi	(Lv et al., 2017)
mencit	miRNA-122	liver	stabil ekspresi penurunan regulasi ekspresi	(H. Wang et al., 2013)

	miRNA-133	liver		(H. Wang et al., 2013)
	miRNA-150	liver	penurunan regulasi ekspresi	(H. Wang et al., 2013)
	miRNA-195	liver	penurunan regulasi ekspresi	(H. Wang et al., 2013)
	miRNA-206	liver	penurunan regulasi pada postmortem 24 jam, lalu	(H. Wang et al., 2013)
	miRNA-133a	jantung, otot rangka, liver	diregulasi ekspresi	(Tu et al., 2019)
	miRNA-122	jantung, liver, dan otot	penurunan regulasi ekspresi	(Tu et al., 2019)
	miRNA-2909	rangka pankreas, limpa and liver	penurunan regulasi ekspresi otot rangka, stabil di jantung dan liver	
			stabil di jantung dan liver, penurunan ekspresi pada otot rangka stabil ekspresi terhadap enzim pendegradasi	
manusia	miRNA-541	vitreous humor	penurunan ekspresi dan stabil setelah 24 jam	(Odriozola et al., 2013)
	miRNA-484	vitreous humor	penurunan ekspresi dan stabil setelah 24 jam	(Odriozola et al., 2013)
	miRNA-142-5p	vitreous humor	penurunan ekspresi dan stabil setelah 24 jam	(Odriozola et al., 2013)
	miRNA-34c	vitreous humor	penurunan ekspresi dan stabil setelah 24 jam	(Odriozola et al., 2013)
	miRNA-888	vitreous humor	penurunan ekspresi dan stabil setelah 24 jam	(Odriozola et al., 2013)
	miRNA-222	vitreous humor	hampir stabil setelah 24 jam ekspresi stabil	(Odriozola et al., 2013)
tikus	miR-miR-1	jantung	peningkatan ekspresi hingga 96 jam	(Kuai et al., 2008)
	miRNA-1	otot		(Lv et al., 2017)
	miRNA 206	- otot paru-paru, otot	peningkatan ekspresi	(Lv et al., 2016)
				(Lv et al., 2016)

miRNA 195	- rangka paru-paru, otot rangka	peningkatan ekspresi	(Lv et al., 2016)
miRNA 206	- paru-paru, otot rangka paru-paru, otot rangka	peningkatan ekspresi	(Lv et al., 2016)
miRNA-200c	otak	penurunan ekspresi dan stabil hingga 144 jam	(Ma et al., 2016)
miRNA 201	- otak	penurunan ekspresi dan stabil hingga 144 jam	(Lu et al., 2015), (Lu et al., 2016)
miRNA -9	jantung	penurunan ekspresi dan stabil hingga 144 jam	(Lu et al., 2016)
miRNA-125b	jantung kulit	stabil hingga 144 jam pada postmortem	(W. Li et al., 2010)
miRNA -1	limpa		(W. Li et al., 2010)
miRNA -2	limpa	stabil hingga lebih dari 24 jam pada postmortem	(Pan et al., 2014)
miRNA -203	-	stabil selama 120 jam kemudian penurunan regulasi ekspresi	(Lv et al., 2014)
miRNA-125b		stabil selama 120 jam kemudian penurunan regulasi ekspresi	
miRNA-143		stabil sebagai internal <i>reference</i>	
		rentan degradasi dalam waktu 144 jam kemudian terjadinya peningkatan ekspresi	
		rentan degradasi dalam waktu 144 jam kemudian terjadinya peningkatan ekspresi	

Penelitian yang semakin intensif pada miRNA dalam mengestimasi interval kematian ini memerlukan penelitian lanjutan secara nyata pada kondisi lapangan postmortem. Hal ini karena

faktor lingkungan dapat memengaruhi hasil dari pemeriksaan tersebut. Meskipun miRNA ini menunjukkan stabilitas yang lebih efisien dan lebih sedikit rentan terhadap kondisi

lingkungan sehingga mampu menjadi gen referensi yang stabil, namun validitas miRNA perlu diteliti lebih lanjut pada sampel postmortem di kondisi nyata (Tu et al., 2019).

TANTANGAN APLIKASI MIRNA PADA BIDANG FORENSIK DI MASA DEPAN

Penggunaan miRNA pada bidang forensik menjadi hal menarik yang ditelusuri oleh banyak ahli. Hasil studi tersebut menunjukkan karakteristik instrinsik dan resistensi miRNA terhadap degradasi akibat banyak faktor membuat miRNA menjadi kandidat yang dipertimbangkan sebagai kontrol gen spesifik. Ide tersebut memunculkan studi tentang pemodelan matematika dalam mencari rumusan terbaik dalam menghitung tingkat degradasi berdasarkan molekul dan konsentrasi miRNA. Selain itu, pemeriksaan miRNA relatif lebih murah (Poloz & O'Day, 2009).

Implementasi miRNA dengan sifat unik dan spesifiknya pada laboratorium forensik yang digunakan secara rutin dalam investigasi forensik membuat perlunya memitigasi tantangan pemeriksaan ini di masa yang akan datang. Hal ini penting karena hasil pemeriksaan identifikasi pada investigasi forensik ini akan menjadi barang bukti yang keabsahan dan validitas metode serta prosesnya dipertanyakan pada persidangan. Beberapa hal yang perlu diperhatikan agar pemeriksaan miRNA dalam bidang forensik dapat diterima dan valid adalah kerusakan sampel. Sejauh ini belum banyak penelitian yang mampu menjelaskan metode pemeriksaan miRNA pada sampel forensik dengan kerusakan yang cukup tinggi, sedangkan sampel forensik hampir selalu berada dalam kondisi yang rusak akibat terpapar faktor lingkungan. Selain itu, belum ada studi metode memperbaiki RNA dengan komposisi yang telah rusak pada sampel tersebut. Molekul protein, DNA, dan RNA sangat

mudah terdegradasi dengan komponen yang akan rusak dengan paparan ekstrim, baik itu suhu, kelembaban, sinar ultraviolet, dan berbagai bentuk kerusakan enzimatik atau kimia (Alaeddini et al., 2010), (Hall et al., 2014).

Tantangan berikutnya adalah penentuan metode pemeriksaan yang tepat dan efisien serta disepakati dalam melakukan pemeriksaan miRNA, termasuk dalam penentuan volume dan konsentrasi sampel, proses quantifikasi dan amplifikasi miRNA. Metode standar emas dalam pemeriksaan miRNA adalah teknik qPCR (Zubakov et al., 2010). Namun, *next generation sequencing* (NGS) dengan teknologi yang memungkinkan pengurutan miRNA dapat menjadi teknologi standar instrumentasi dalam pemeriksaan forensik. NGS dapat memberikan pendekatan yang lebih komprehensif, multiplexing dan pengurutan yang lebih detail. Meskipun penggunaan NGS akan memunculkan tantangan lain terkait harga pemeriksaan yang lebih mahal, ketersediaan reagen dan kit miRNA, dan keahlian laboran di bidang analisis miRNA seperti biomedis dan klinis. Tantangan ini menjadi hal yang perlu dipertimbangkan dalam menjadikan miRNA sebagai kandidat penanda dalam identifikasi investigasi forensik.

KESIMPULAN

Eksplorasi miRNA secara luas dalam fungsi dan proses regulasi dalam tubuh mengungkapkan peran miRNA sebagai kandidat penanda. Penanda miRNA dalam mengetahui adanya gangguan metabolisme yang menyebabkan suatu penyakit telah berhasil dilakukan. Potensi miRNA pada bidang forensik belum banyak diungkap. Penggunaan miRNA dalam perannya pada identifikasi dan investigasi forensik memberikan pandangan baru dalam memudahkan proses identifikasi dan berperan penting dalam membantu identifikasi serta mengatasi beberapa tantangan yang dihadapi dalam proses pemeriksaannya. Beberapa penelitian yang berhasil menjelaskan bahwa

stabilitas miRNA lebih dari mRNA karena ukurannya sangat kecil. Analisis miRNA merupakan pendekatan baru sebagai bukti fisik sebagai kandidat kuat dalam menentukan jenis sampel forensik, bahkan dalam mengestimasi interval postmortem. Aplikasi forensik pada dua fungsi ini diharapkan dapat menjadi batu loncatan dalam validitas identifikasi DNA pada sampel forensik, meskipun penggunaan miRNA langsung di laboratorium forensik perlu diteliti lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaeddini, R., Walsh, S. J., & Abbas, A. (2010). Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA-A review. *Forensic Science International: Genetics*, 4(3), 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.09.007>
- Alshehhi, S., & Haddrill, P. R. (2019). Estimating time since deposition using quantification of RNA degradation in body fluid-specific markers. *Forensic Science International*, 298, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.02.046>
- An, J. H., Shin, K. J., Yang, W. I., & Lee, H. Y. (2012). Body fluid identification in forensics. *BMB Reports*, 45(10), 545–553. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2012.45.10.206>
- Anantharaman, V., Koonin, E. V., & Aravind, L. (2002). Comparative genomics and evolution of proteins involved in RNA metabolism. *Nucleic Acids Research*, 30(7), 1427–1464. <https://doi.org/10.1093/nar/30.7.1427>
- Bartel, D. P. (2018). Metazoan MicroRNAs. *Cell*, 173(1), 20–51. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.006>
- Bartel, D. P., & Chen, C. Z. (2004). Micromanagers of gene expression: The potentially widespread influence of metazoan microRNAs. *Nature Reviews Genetics*, 5(5), 396–400. <https://doi.org/10.1038/nrg1328>
- Bexon, K. J., & Acfs, M. (2017). *Forensic MicroRNA Analysis of Body Fluids Relating to Sexual Assaults*.
- Brooks, J. W. (2016). Postmortem Changes in Animal Carcasses and Estimation of the Postmortem Interval. *Veterinary Pathology*, 53(5), 929–940. <https://doi.org/10.1177/0300985816629720>
- Calin, G. A., & Croce, C. M. (2006). MicroRNA signatures in human cancers. *Nature Reviews Cancer*, 6(11), 857–866. <https://doi.org/10.1038/nrc1997>
- Courts, C., & Madea, B. (2011). Specific micro-RNA signatures for the detection of saliva and blood in forensic body-fluid identification. *Journal of Forensic Sciences*, 56(6), 1464–1470. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01894.x>
- Dumache, R., Ciocan, V., Muresan, C., Rogobete, A. F., & Enache, A. (2015). *Circulating MicroRNAs as Promising Biomarkers in Forensic Body Fluids Identification*. Clin Lab. <https://doi.org/https://doi.org/10.7754/clin.lab.2015.150207>
- Esau, C., Davis, S., Murray, S. F., Yu, X. X., Pandey, S. K., Pear, M., Watts, L., Booten, S. L., Graham, M., McKay, R., Subramaniam, A., Propp, S., Lollo, B. A., Freier, S., Bennett, C. F., Bhanot, S., & Monia, B. P. (2006). miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metabolism*, 3(2), 87–98. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.005>
- Esau, C., Kang, X., Peralta, E., Hanson,

- E., Marcusson, E. G., Ravichandran, L. V., Sun, Y., Koo, S., Perera, R. J., Jain, R., Dean, N. M., Freier, S. M., Bennett, C. F., Lollo, B., & Griffey, R. (2004). MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50), 52361–52365.
<https://doi.org/10.1074/jbc.C400438200>
- Etheridge, A., Lee, I., Hood, L., Galas, D., & Wang, K. (2011). Extracellular microRNA: a new resource of biomarkers. *Mutation Research*, 717(1–2), 85–90.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmm.2011.03.004>.Extracellular
- Flissak, J. C., Moura, M. O., & Kaufman, P. (2018). Intrapuparial development of *sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) for Postmortem Interval Estimation (PMI). *Journal of Medical Entomology*, 55(2), 277–284.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjx214>
- Glynn, C. L. (2020). Potential applications of microRNA profiling to forensic investigations. *Rna*, 26(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1261/rna.072173.119>
- Griffiths-Jones, S., Grocock, R. J., van Dongen, S., Bateman, A., & Enright, A. J. (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Research*, 34(Database issue), 140–144.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkj112>
- Haas, C., Hanson, E., & Ballantyne, J. (2013). mRNA and MicroRNA for Body Fluid Identification. In *Encyclopedia of Forensic Sciences: Second Edition* (2nd ed.). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382165-2.00069-6>
- Hall, A., Sims, L. M., & Ballantyne, J. (2014). Assessment of DNA damage induced by terrestrial UV irradiation of dried bloodstains: Forensic implications. *Forensic Science International: Genetics*, 8(1), 24–32.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.06.010>
- Hannon, G. J. (2002). RNA interference. *Nature*, 418(6894), 244–251.
<https://doi.org/10.1038/418244a>
- Hanson, E. K., Lubenow, H., & Ballantyne, J. (2009). Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Analytical Biochemistry*, 387(2), 303–314.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.01.037>
- Harfe, B. D. (2005). MicroRNAs in vertebrate development. *Current Opinion in Genetics and Development*, 15(4), 410–415.
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2005.06.012>
- Hui, A. B., Shi, W., Boutros, P. C., Miller, N., Pintilie, M., Fyles, T., McCready, D., Wong, D., Gerster, K., Jurisica, I., Penn, L. Z., & Liu, F. F. (2009). Robust global microRNA profiling with formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissues. *Laboratory Investigation*, 89(5), 597–606.
<https://doi.org/10.1038/labinvest.2009.12>
- Hutvagner, G., & Simard, M. J. (2008). Argonaute proteins: Key players in RNA silencing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 22–32.
<https://doi.org/10.1038/nrm2321>
- Ibrahim, S. F., Ali, M. M., Basyouni, H., Rashed, L. A., Amer, E. A. E., & Abd El-Kareem, D. (2019). Histological and miRNAs postmortem changes in incisional wound. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 9(1).

- <https://doi.org/10.1186/s41935-019-0141-7>
- Khaldi, N., Miras, A., Benali, L., & Botti, K. (2004). Evaluation of Three Rapid Detection Methods for the Forensic Identification of Seminal Fluid in Rape Cases. *Journal of Forensic Sciences*, 49(4), 749–753. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1520/JFS2003317>
- Kuai, J., Liu, Y., & Zhang, Y.-W. (2008). A study on the relationship between the degradation of tubulin in cardiac muscle and lung of rat and the postmortem interval. *Chinese Journal of Forensic Medicine*. <https://www.researchgate.net/journal/Chinese-Journal-of-Forensic-Medicine-1001-5728>
- Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W., & Tuschl, T. (2001). Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294(5543), 853–858. <https://doi.org/10.1126/science.1064921>
- Lau, N. C., Lim, L. P., Weinstein, E. G., & Bartel, D. P. (2001). *Lau2001Science*. 294(October), 858–862.
- Li, W., Zhang, P., Ma, K., & Wan, H. (2010). Estimation of postmortem interval using microRNA and 18S rRNA degradation in rat cardiac muscle. *Fa Yi Xue Za Zhi*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1004-5619.2010.06.003>
- Li, Y., Wang, Z., & Hou, Y. (2011). MiR16 as a microRNA marker applied in species identification. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 3(1), e313–e314. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2011.09.019>
- Liang, Y., Ridzon, D., Wong, L., & Chen, C. (2007). Characterization of microRNA expression profiles in normal human tissues. *BMC Genomics*, 8, 1–20. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-166>
- Lim, L. P., Lau, N. C., Garrett-Engle, P., Grimson, A., Schelter, J. M., Castle, J., Bartel, D. P., Linsley, P. S., & Johnson, J. M. (2005). Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*, 433(7027), 769–773. <https://doi.org/10.1038/nature03315>
- Lu, Y., Li, Z., Tuo, Y., Liu, L., Li, K., Bian, J., Ma, J., & Chen, L. (2016). Correlation between RNA Degradation Patterns of Rat's Brain and Early PMI at Different Temperatures. *Fa Yi Xue Za Zhi*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-5619.2016.03.002>
- Lv, Y. H., Ma, J. L., Pan, H., Zeng, Y., Tao, L., Zhang, H., Li, W. C., Ma, K. J., & Chen, L. (2017). Estimation of the human postmortem interval using an established rat mathematical model and multi-RNA markers. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 13(1), 20–27. <https://doi.org/10.1007/s12024-016-9827-4>
- Lv, Y. H., Ma, J. L., Pan, H., Zhang, H., Li, W. C., Xue, A. M., Wang, H. J., Ma, K. J., & Chen, L. (2016). RNA degradation as described by a mathematical model for postmortem interval determination. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 44, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2016.08.015>
- Lv, Y. H., Ma, K. J., Zhang, H., He, M., Zhang, P., Shen, Y. W., Jiang, N., Ma, D., & Chen, L. (2014). A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA changes to estimate PMI in deceased rat's spleen. *Journal of Forensic Sciences*,

- 59(5), 1286–1294.
<https://doi.org/10.1111/1556-4029.12447>
- Ma, J., Pan, H., Zeng, Y., Lv, Y., Zhang, H., Xue, A., Jiang, J., Ma, K., & Chen, L. (2015). Exploration of the R code-based mathematical model for PMI estimation using profiling of RNA degradation in rat brain tissue at different temperatures. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 11(4), 530–537. <https://doi.org/10.1007/s12024-015-9703-7>
- Manetti, F. (n.d.). *LIM Kinases Are Attractive Targets with Many Macromolecular Partners and Only a Few Small Molecule Regulators*. <https://doi.org/10.1002/med>
- Mayes, C., Seashols-Williams, S., & Hughes-Stamm, S. (2018). A capillary electrophoresis method for identifying forensically relevant body fluids using miRNAs. *Legal Medicine*, 30(October 2017), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.10.013>
- Mohammed, A. T., Khalil, S. R., Ali, H. A., & Awad, A. (2018). Validation of mRNA and microRNA profiling as tools in qPCR for estimation of the age of bloodstains. *Life Science Journal*, August, 7. <https://doi.org/10.7537/marslsj150618.01>
- Myburgh, J., L'Abbé, E. N., Steyn, M., & Becker, P. J. (2013). Estimating the postmortem interval (PMI) using accumulated degree-days (ADD) in a temperate region of South Africa. *Forensic Science International*, 229(1–3), 165.e1–165.e6. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.03.037>
- Myers, J. R., & Adkins, W. K. (2008). Comparison of modern techniques for saliva screening. *Journal of Forensic Sciences*, 53(4), 862–867. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00755.x>
- O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9(AUG), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
- O'Leary, K. R., & Glynn, C. L. (2018). Investigating the Isolation and Amplification of microRNAs for Forensic Body Fluid Identification. *MicroRNA*, 7(3), 187–194. <https://doi.org/10.2174/2211536607666180430153821>
- Odrizola, A., Riancho, J. A., De La Vega, R., Agudo, G., García-Blanco, A., De Cos, E., Fernández, F., Sañudo, C., & Zarrabeitia, M. T. (2013). MiRNA analysis in vitreous humor to determine the time of death: A proof-of-concept pilot study. *International Journal of Legal Medicine*, 127(3), 573–578. <https://doi.org/10.1007/s00414-012-0811-6>
- Pan, H., Zhang, H., Lu, Y., Ma, J., Ma, K., & Chen, L. (2014). *Correlation between five RNA markers of rat's skin and PMI at different temperatures*. *Fa Yi Xue Za Zhi*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25434083/>
- Poloz, Y. O., & O'Day, D. H. (2009). Determining time of death: Temperature-dependent postmortem changes in calcineurin A, MARCKS, CaMKII, and protein phosphatase 2A in mouse. *International Journal of Legal Medicine*, 123(4), 305–314. <https://doi.org/10.1007/s00414-009-0343-x>
- Rajewsky, N. (2006). MicroRNA target predictions in animals. *Nature Genetics*, 38(6S), S8–S13. <https://doi.org/10.1038/ng1798>
- Rana, T. M. (2007). Illuminating the silence: Understanding the

- structure and function of small RNAs. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(1), 23–36. <https://doi.org/10.1038/nrm2085>
- Sauer, E., Reinke, A. K., & Courts, C. (2016). Differentiation of five body fluids from forensic samples by expression analysis of four microRNAs using quantitative PCR. *Forensic Science International: Genetics*, 22, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.01.018>
- Setzer, M., Juusola, J., & Ballantyne, J. (2008). Recovery and stability of RNA in vaginal swabs and blood, semen, and saliva stains. *Journal of Forensic Sciences*, 53(2), 296–305. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00652.x>
- Sirker, M., Fimmers, R., Schneider, P. M., & Gomes, I. (2017). Evaluating the forensic application of 19 target microRNAs as biomarkers in body fluid and tissue identification. *Forensic Science International: Genetics*, 27, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.11.012>
- Sood, P., Krek, A., Zavolan, M., Macino, G., & Rajewsky, N. (2006). Cell-type-specific signatures of microRNAs on target mRNA expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(8), 2746–2751. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511045103>
- Tanić, M., Yanowski, K., Andrés, E., Gómez-López, G., Socorro, M. R. P., Pisano, D. G., Martínez-Delgado, B., & Benítez, J. (2015). miRNA expression profiling of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) hereditary breast tumors. *Genomics Data*, 3, 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2014.11.008>
- Tavazoie, S. F., Alarcón, C., Oskarsson, T., Padua, D., Wang, Q., Bos, P. D., Gerald, W. L., & Massagué, J. (2008). Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature*, 451(7175), 147–152. <https://doi.org/10.1038/nature06487>
- Teresa, M., & Machado, V. (2015). *For peripheral fractions identification: possible forensic applications*.
- Tobe, S. S., Watson, N., & Daéid, N. N. (2007). Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular-weight DNA. *Journal of Forensic Sciences*, 52(1), 102–109. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00324.x>
- Tu, C., Du, T., Ye, X., Shao, C., Xie, J., & Shen, Y. (2019). Using miRNAs and circRNAs to estimate PMI in advanced stage. *Legal Medicine*, 38(March), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2019.04.002>
- van der Meer, D., Uchimoto, M. L., & Williams, G. (2013). Simultaneous analysis of micro-RNA and DNA for determining the body fluid origin of DNA profiles. *Journal of Forensic Sciences*, 58(4), 967–971. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12160>
- Várallyay, É., & Havelda, Z. (2013). Unrelated viral suppressors of RNA silencing mediate the control of ARGONAUTE1 level. *Molecular Plant Pathology*, 14(6), 567–575. <https://doi.org/10.1111/mpp.12029>
- Vennemann, M., & Koppelkamm, A. (2010). mRNA profiling in forensic genetics I: Possibilities and limitations. *Forensic Science International*, 203(1–3), 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.07.006>
- Virkler, K., & Lednev, I. K. (2009).

- Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Science International*, 188(1-3), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.02.013>
- Wang, H., Mao, J., Li, Y., Luo, H., Wu, J., Liao, M., Liang, W., & Zhang, L. (2013). 5 miRNA expression analyze in post-mortem interval (PMI) within 48h. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 4(1), e190-e191. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2013.10.098>
- Wang, Z., Luo, H., Pan, X., Liao, M., & Hou, Y. (2012). A model for data analysis of microRNA expression in forensic body fluid identification. *Forensic Science International: Genetics*, 6(3), 419-423. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.08.008>
- Wang, Z., Zhang, J., Luo, H., Ye, Y., Yan, J., & Hou, Y. (2013). Screening and confirmation of microRNA markers for forensic body fluid identification. *Forensic Science International: Genetics*, 7(1), 116-123. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.07.006>
- Wang, Z., Zhang, J., Wei, W., Zhou, D., Luo, H., Chen, X., & Hou, Y. (2015). Identification of Saliva Using MicroRNA Biomarkers for Forensic Purpose. *Journal of Forensic Sciences*, 60(3), 702-706. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12730>
- Watanabe, K., & Akutsu, T. (2020). Evaluation of a co-extraction kit for mRNA, miRNA and DNA methylation-based body fluid identification. *Legal Medicine*, 42, 101630. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2019.101630>
- Wegman, D. W., & Krylov, S. N. (2013). Direct miRNA-hybridization assays and their potential in diagnostics. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 44, 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.10.014>
- Wilson, S. J., & Christensen, A. M. (2017). A test of the citrate method of PMI estimation from skeletal remains. *Forensic Science International*, 270, 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.11.026>
- Wong, L. L., Wang, J., Liew, O. W., Richards, A. M., & Chen, Y. T. (2016). MicroRNA and heart failure. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), 1-31. <https://doi.org/10.3390/ijms17040502>
- Zubakov, D., Boersma, A. W. M., Choi, Y., Van Kuijk, P. F., Wiemer, E. A. C., & Kayser, M. (2010). MicroRNA markers for forensic body fluid identification obtained from microarray screening and quantitative RT-PCR confirmation. *International Journal of Legal Medicine*, 124(3), 217-226. <https://doi.org/10.1007/s00414-009-0402-3>