



## POLYMORPHISM VITAMIN D RECEPTOR GENE (VDR) BSML (RS1544410) CHRONIC PERIODONTITIS PATIENT IN JAVANESE BANYUMAS ETHNIC

POLIMORFISME GEN VITAMIN D RECEPTOR (VDR) BSMI (RS1544410) PENDERITA PERIODONTITIS KRONIS PADA SUKU JAWA BANYUMAS

Ryana Budi Purnama\*<sup>ORCID</sup>, Setiadi Warata Logamarta<sup>ORCID</sup>, Agung Dhartono<sup>ORCID</sup>

Department of Dental Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Jenderal Soedirman, Pwokerto-Indonesia

### ABSTRACT

**Background:** Chronic periodontitis, a chronic inflammatory condition of periodontal tissue, can occur due to microorganisms as a local factor and genetic as a systemic factor. Genetic factors that cause chronic periodontitis, namely mutations in the form of a gene that functions to regulate calcium homeostasis, which is called the vitamin D receptor (VDR) gene. Mutated VDR gene causing different effect in a population and ethnic groups, including Javanese Banyumas Ethnic.

**Purpose:** To understand the genotype distribution and VDR BsmI (rs1544410) gene allotype frequency chronic periodontitis patient in Javanese Banyumas Ethnic. **Method:** The research was descriptive research in the form of a cross-sectional study of 26 chronic periodontitis patients in the Javanese Banyumas tribe. The samples obtained were carried out by the process of DNA isolation, Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), and data in the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) Court Lab analysis. **Result:** Whole samples from DNA isolation amplified with one ribbon 524 bp VDR gene. RFLP restriction enzyme BsmI process is also showing cutting in each sample. From data analysis,  $X^2$  is 0,44 with  $p=0,50$  ( $p>0,05$ ) resulted. It was showing mutant VDR gene allele frequency in chronic periodontitis patients in Javanese Banyumas ethnic were balanced genetically. **Conclusion:** Genotype distribution in chronic periodontitis patient in Javanese Banyumas ethnic were 20 (76,9%) GG (bb) genotype, 6 (23,1%) GA (Bb) genotype, and 0 (0%) AA (BB) genotype with alel G (b) (wild type) allele frequency 0,88 (88%) and A allele (B or mutant) 0,12 (12%).

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Periodontitis kronis, suatu kondisi peradangan kronis jaringan periodontal, dapat terjadi karena mikroorganisme sebagai salah satu faktor lokal serta genetik sebagai faktor sistemik. Faktor genetik penyebab periodontitis kronis dapat berupa mutasi gen yang berfungsi dalam pengaturan homeostasis kalsium, yang disebut gen vitamin D receptor (VDR). Mutasi pada gen VDR yang terjadi pada suatu daerah dapat berbeda dengan daerah lain, karena efek genetika berbeda pada populasi, suku, atau etnis yang berbeda dan dapat terjadi pada Suku Jawa Banyumas. **Tujuan:** Untuk mengetahui distribusi genotip dan frekuensi alotip gen VDR BsmI (rs1544410) penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas.

**Metode:** Penelitian yang telah dilakukan berupa penelitian deskriptif dalam bentuk studi cross sectional terhadap 26 penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas. Sampel yang diperoleh dilakukan proses isolasi DNA, Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) dan data di analisis Court Lab Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE). **Hasil:** Seluruh sampel hasil isolasi DNA teramplifikasi gen VDR dengan adanya satu pita berukuran 524 bp. Proses RFLP enzim restriksi BsmI menunjukkan pemotongan pada seluruh sampel. Hasil analisis data menunjukkan  $X^2$  sebesar 0,44 dengan nilai  $p = 0,50$  ( $p>0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan frekuensi alel mutan gen VDR penderita periodontitis kronis Suku Jawa Banyumas dalam keadaan keseimbangan genetik. **Kesimpulan:** Distribusi genotip penderita periodontitis kronis Suku Jawa Banyumas sebanyak 20 (76,9%) genotip GG (bb), 6 (23,1%) genotip GA (Bb), dan 0 (0%) genotip AA (BB) dengan frekuensi alel G (b) (wild type) sebesar 0,88 (88%) dan alel A (B atau mutan) sebesar 0,12 (12%).

Research Report  
Penelitian

### ARTICLE INFO

Received 31 December 2020  
Revised 8 February 2021  
Accepted 24 March 2021  
Online 31 March 2021

Correspondence:  
Ryana Budi Purnama

E-mail:  
ryana.purnama@unsoed.ac.id

### Keywords:

BsmI, Chronic periodontitis, Polimorphism, rs1544410, Vitamin D Receptor gene

### Kata kunci:

BsmI, Gen vitamin D receptor, Periodontitis kronis, Polimorfism, rs1544410

## PENDAHULUAN

Salah satu dari daftar penyakit gigi dan mulut terbanyak di Indonesia adalah penyakit periodontal. Berdasarkan atas hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, penyakit periodontal berada pada peringkat kedua penyakit gigi dan mulut di Indonesia setelah karies gigi dengan prevalensi 70% dari penduduk Indonesia, sebagian diantaranya menderita penyakit periodontal lanjut yang dapat menyebabkan gigi goyang dan lepas. Pada Kabupaten Banyumas salah satu wilayah Jawa Tengah memiliki jumlah kasus penyakit periodontal sebanyak 15.236 kasus (Dinas Kesehatan Kabupaten Banyumas, 2011). Penyakit periodontal yang sering diderita oleh penduduk Indonesia yaitu periodontitis kronis. Periodontitis kronis merupakan peradangan kronis yang terjadi pada jaringan periodontal atau pendukung gigi (Newman et al., 2019).

Periodontitis kronis merupakan tipe periodontitis yang banyak terjadi dengan proses perkembangan yang lambat. Periodontitis kronis terjadi pada individu dengan usia 35 tahun ke atas, namun dapat pula terjadi pada usia muda. Ciri-ciri penyakit ini adalah terjadi inflamasi jaringan periodontal dengan migrasi *junctional epithelium* ke apikal, adanya kemerahan, pembengkakan *gingiva*, poket periodontal, perdarahan saat *probing* dan kerusakan tulang alveolar (Fedi et al., 2004; Newman et al., 2019). Periodontitis kronis dapat terjadi disebabkan oleh faktor lokal dan sistemik. Faktor lokal yang menyebabkan periodontitis kronis berupa mikroorganisme yang berkolonisasi di permukaan gigi menjadi plak, kalkulus, debris makanan, material alba dan faktor iatrogenik. Faktor sistemik yang dapat menyebabkan periodontitis kronis berupa faktor genetik, nutrisi, hormonal dan hematologi (Fedi et al., 2004). Beberapa penelitian belakangan ini menunjukkan faktor sistemik seperti genetik dapat menghasilkan modifikasi respons jaringan terhadap iritasi bakteri, mempengaruhi perkembangan serta keparahan periodontitis kronis dan respon jaringan terhadap perawatan. Kondisi yang demikian berhubungan dengan suatu gen seperti gen vitamin D *receptor* (VDR) (Hamrun Nurlinda, 2011).

Vitamin D merupakan vitamin yang didapat dari FFbioaktivasi *7-dehydrocholesterol* sehingga membentuk 1,25(OH)2D3 (calcitriol). Vitamin D bersama-sama dengan reseptor khusus, dan enzim metabolisisme bekerja dalam sistem endokrin vitamin D yang berperan dalam homeostasis kalsium. Aktivasi dari 1,25(OH)2D3 dalam pengaturan homeostasis kalsium. Perubahan genetika dari gen VDR dapat menyebabkan gangguan dari peran vitamin D dalam metabolisisme kalsium (Uitterlinden et al., 2004; Valdivielso and Fernandez, 2006; Haussler et al., 2010).

Perubahan yang terjadi pada gen VDR diduga berhubungan dengan patogenesis penyakit periodontal dan penyakit sistemik lain yang berhubungan dengan

metabolisme kalsium, salah satunya periodontitis kronis (Gunes et al., 2008). Hal ini didukung dengan beberapa penelitian seperti (El Jilani et al., 2015), melaporkan hubungan polimorfisme gen VDR dengan periodontitis kronis yang terjadi pada populasi Libyan (El Jilani et al., 2015). Penelitian lain oleh (de Brito Junior et al., 2004) serta (Brett et al., 2005) juga melaporkan adanya hubungan antara polimorfisme pada TaqI dan BsmI gen VDR dengan periodontitis kronis pada populasi Brazil (de Brito Junior et al., 2004; Brett et al., 2005).

Hubungan antara polimorfisme gen VDR dengan periodontitis kronis memiliki hasil yang berbeda-beda pada berbagai studi yang dilakukan dalam berbagai kelompok populasi. Keanekaragaman masyarakat dalam populasi, ras, faktor lingkungan geografis dan etnik adalah faktor yang dapat berpengaruh, karena efek genetik dapat berbeda dari etnik yang berbeda (Naito et al., 2007; Borges et al., 2009). Hal ini dapat terjadi pada semua daerah termasuk di daerah Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah. Berdasarkan hal tersebut, peneliti bermaksud untuk meneliti polimorfisme gen VDR BsmI (rs1544410) penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas.

## MATERIAL DAN METODE

Desain pada penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dalam bentuk studi *cross sectional*. Penelitian telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik RSUD Dr. Moewardi. Subyek penelitian dengan jumlah sampel sebanyak 26 orang, yaitu pasien dengan atau memiliki riwayat periodontitis kronis.

Anamnesis lengkap dilakukan terhadap subyek dengan format isian terdiri atas identitas, umur, domisili, jenis kelamin, pekerjaan, status kesehatan, obat-obatan yang digunakan, pengecekan tekanan darah, serta menerangkan kepada setiap subyek penelitian mengenai tujuan dan tahap-tahap penelitian dan menandatangani *informed consent* (pernyataan persetujuan). Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel darah perifer sebanyak 3 cc dan disimpan dalam tabung *vacutainer* yang mengandung EDTA dan disimpan pada suhu 4°C.

Isolasi DNA dilakukan sesuai protokol *Purelink*® genomic DNA kit (invitrogen). Pertama-tama dilakukan pembuatan *blood lysates*. Pada tabung mikrosentrifugasi steril (1,5 mL) ditambahkan  $\leq 200 \mu\text{L}$  sampel darah segar atau sampel darah beku (jika sampel darah  $< 200 \mu\text{L}$  volume sampel darah sampel ditambahkan PBS hingga volume 200  $\mu\text{L}$ ). 20  $\mu\text{L}$  proteinase K dan 20  $\mu\text{L}$  RNase A ditambahkan pada sampel, sampel dihomogenasi dengan vortex secara singkat dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 menit. Kemudian, 200  $\mu\text{L}$  *lysis/binding buffer* ditambahkan pada sampel dan dilakukan pecampuran hingga larutan homogen. Sampel (*lysate*) diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit untuk meningkatkan digesti protein. 200  $\mu\text{L}$

96-100% etanol ditambahkan ke dalam *lysate*. *Lysate* selanjutnya dicampur dengan menggunakan vortex untuk menghasilkan larutan yang homogen.

Proses selanjutnya dilakukan proses *binding* DNA. 640  $\mu$ L *lysate* (sampel) dipindahkan ke tabung koleksi yang terdapat kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dan dilakukan sentrifugasi pada 10.000 g, selama 1 menit, suhu 25°C (ruang). Setelah proses *binding* dilakukan proses *washing* DNA. Kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dipindahkan ke tabung koleksi baru. Selanjutnya, 500  $\mu$ L *wash buffer* 1 ditambahkan ke dalam kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dan dilakukan sentrifugasi pada 10.000 g, selama 1 menit, suhu 25°C (ruang). Kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dipindahkan ke tabung koleksi baru. Selanjutnya, 500  $\mu$ L *wash buffer* 2 ditambahkan ke dalam kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dan dilakukan sentrifugasi pada 13.000 g, selama 3 menit, suhu 25°C (ruang). Kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dipindahkan ke tabung mikrosentrifugasi baru (1,5 mL).

Proses setelah *washing* DNA dilakukan elution. 100  $\mu$ L elution *buffer* ditambahkan ke dalam kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dengan tabung mikrosentrifugasi baru, diinkubasi selama 1 menit, suhu 25°C (ruang) dan dilakukan sentrifugasi pada 13.000 g, selama 1 menit, suhu 25°C (ruang). Pada tabung mikrosentrifugasi (1,5 mL) mengandung larutan DNA genom yang telah dipurifikasi. Apabila ingin mendapatkan DNA genom yang masih tersisa dalam kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin*, maka dapat dilakukan tahap sebagai berikut kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin* dipindahkan ke tabung mikrosentrifugasi baru (1,5 mL), 50  $\mu$ L elution *buffer* ditambahkan ke dalam kolom *PureLink<sup>®</sup>Spin*, diinkubasi selama 1 menit pada suhu 25°C (ruang) dan dilakukan sentrifugasi pada 13.000 g, selama 1,5 menit pada suhu 25°C (ruang). Larutan DNA genom dilakukan pengecekan konsentrasi DNA dan kemurnian DNA dengan *nanodrop spectrophotometry*. Larutan DNA genom disimpan pada suhu -20°C.

Polimorfisme gen VDR diidentifikasi dengan teknik *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP). Pada teknik PCR untuk mendeteksi gen VDR dengan primer forward 5'-AGGGAGACGTAGCAAAAAGGA-3' dan primer reverse 5'-ATTCCTTGAGCCTCCAGTCC-3'. Campuran PCR (PCR mix) dibuat dalam volume 25  $\mu$ L dengan komposisi terdiri dari 22,0  $\mu$ L PCR SuperMix (22 mM Tris-HCl (pH 8,4), 55 mM KCl, 1,65 mM MgCl<sub>2</sub>, 220  $\mu$ M dNTP, 22 U recombinantTaq DNA Polymerase/mL, *stabilizers*), primer *forward* dan *reverse* masing-masing 0,6  $\mu$ M, dan 100ng/ $\mu$ L cetakan DNA. Campuran PCR diamplifikasi pada mesin PCR (*GeneAmp<sup>®</sup> PCR System 9700*, PE *applied biosystems*) pada kondisi PCR sebagai berikut, denaturasi awal 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 32 siklus denaturasi 94°C selama 15 detik, *annealing* selama 1,5 menit pada suhu 59°C dan *extension* selama 2 menit pada suhu 72°C. Setelah selesai 30 siklus, kemudian

diikuti dengan *post extension* pada suhu 72°C selama 7 menit.

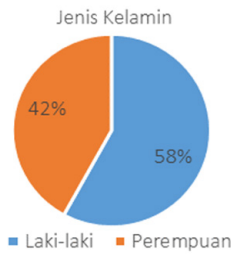
Hasil amplifikasi gen divisualisasikan menggunakan metode elektroforesis gel. Gel agarosa 1,5% dibuat dengan cara mencampurkan 0,75 gr agarosa dan 50 mL TBE *buffer*. Suspensi tersebut kemudian dioven menggunakan *microwave* selama 1 menit sampai bubuk agarosa larut sempurna. Hasil elektroforesis kemudian didinginkan sambil dikocok perlahan. Setelah suhunya sekitar 50-60°C, ditambahkan 0,5  $\mu$ L EtBr. Suspensi kemudian dituang ke dalam baki elektroforesis yang sebelumnya sudah dipasang *comb*, kemudian ditunggu hingga memadat selama 25-45 menit. Gel yang telah mengeras kemudian ditaruh ke dalam tangki elektroforesis yang didalamnya terdapat larutan TBE 1x hingga seluruh bagian gel terendam sempurna. DNA *marker* (DNA ladder 100 bp) sebanyak 5  $\mu$ L dihomogenkan dengan *loading dye* sebanyak 1  $\mu$ L dimasukkan ke well pertama dan well selanjutnya diisi dengan sampel hasil PCR sebanyak 5  $\mu$ L yang telah dihomogenkan dengan *loading dye* sebanyak 1  $\mu$ L. *Running* dilakukan selama 80 menit dengan *voltage* 80 V dan kuat arus 200 A. Hasil visualisasi dilakukan dengan menggunakan Gel-Doc 1000 yang dapat dilihat pada layar komputer. Hasil elektroforesis pada gel agarose 1,5% yaitu amplikon DNA berukuran 524 bp (*basepair*).

Amplikon DNA selanjutnya dianalisis dengan teknik RFLP. Campuran digesti dibuat dalam volume 13  $\mu$ L yang komposisinya terdiri dari 2  $\mu$ L 1X NEBuffer 1.1 dan 1  $\mu$ L enzim *restriksi* BsmI dan 10  $\mu$ L cetakan DNA (amplikon DNA), kemudian campuran diinkubasi selama 3-4 jam, pada suhu 65°C (Wang et al., 2013). Hasil RFLP dideteksi dengan elektroforesis pada gel agarose 1,5%. Hasil RFLP dengan enzim *restriksi* BsmI berupa genotip yang terdiri dari homozigot AA, heterozigot AG dan homozigot GG. Berdasarkan atas genotip yang didapat dapat dilakukan perhitungan alotip gen VDR yang terdiri dari alel tipe normal/*wild type* (G) berukuran 192 bp, sedangkan alel tipe mutan (A) berukuran 332 bp dan 524 bp. Distribusi dan frekuensi genotip dan alotip dianalisis dengan *Hardy-Weinberg Equilibrium* (HWE).

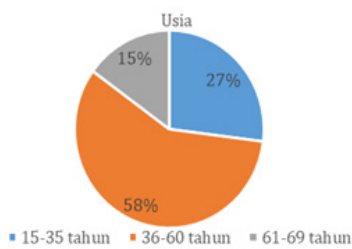
## HASIL

Penelitian ini dilakukan pada penderita periodontitis kronis di wilayah Kabupaten Banyumas dengan silsilah keluarga Suku Jawa Banyumas berdasarkan rekam medis dari Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto, Poli Gigi PMI Kalibener Banyumas, dan Klinik Gigi Vira Medika Purwokerto. Semua penderita periodontitis kronis tersebut dilakukan seleksi dengan kriteria inklusi dan eksklusi serta bersedia menjadi sampel penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Jumlah

pasien yang didapatkan sebanyak 26 orang. Jumlah tersebut sesuai dengan minimum sampel berdasarkan besar sampel proporsi polimorfisme gen vitamin D *receptor* (VDR) dengan enzim *restriksi* BsmI sebesar 7 persen sebanyak 26 orang.



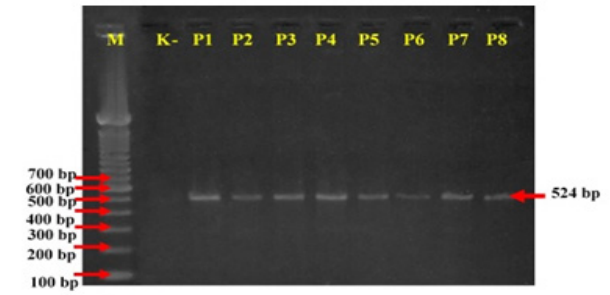
**Gambar 1.** Karakteristik jenis kelamin penderita periodontitis kronis pada populasi Jawa di Banyumas



**Gambar 2.** Karakteristik usia sampel penelitian penderita periodontitis kronis

Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi adanya polimorfisme gen vitamin D *receptor* (VDR) dengan teknik *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) yang dilakukan di Laboratorium Genetika dan Biologi Molekuler Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Sampel darah subjek penelitian pertama-tama dilakukan isolasi DNA dengan kit isolasi DNA Invitrogen. DNA hasil isolasi dilakukan pengecekan konsentrasi dan kemurnian terlebih dahulu dengan *nanodrop spectrofotometry*.

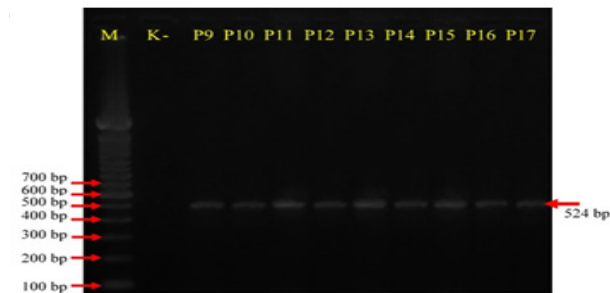
DNA hasil isolasi selanjutnya diamplifikasi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer *forward* 5'-AGGGAGACGTAGCAAAGGA-3' dan primer *reverse* 5'-ATTCCTTGAGCCTCCAGTCC-3'. Amplifikasi DNA dengan PCR dilakukan dalam kondisi, denaturasi awal 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 32 siklus denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* selama 1 menit pada suhu 59°C dan *extension* selama 1 menit 30 detik pada suhu 72°C. Setelah selesai 30 siklus, diikuti dengan post extension pada suhu 72°C selama 7 menit. Hasil amplifikasi selanjutnya di visualisasi pada gel agarose 1% dengan *voltage* 80 Volt dan dengan arus 300 ampere selama 60 menit. Hasil amplifikasi yang telah di visualisasi terbentuk pita berukuran 524 bp. Hal ini terdapat pada semua sampel. Hasil visualisasi amplifikasi PCR gen VDR sampel P1 sampai P8 dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan: M: DNA marker 100 basepair, K-: Kontrol negatif (non DNA template), Pn:Sampel ke-n, bp:basepair

**Gambar 3.** Hasil amplifikasi PCR gen VDR sampel P1-P8

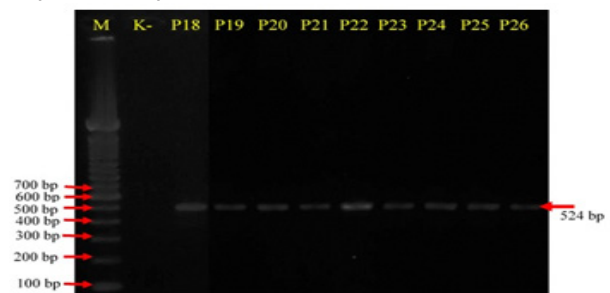
Pada Gambar 3, didapatkan hasil amplifikasi PCR gen VDR sampel P1 hingga P8 dengan gambaran satu pita berukuran 524 bp. Hal ini menunjukkan teramplifikasinya gen VDR pada sampel P1 hingga P8. Hasil ampfilikasi PCR gen VDR sampel P9 hingga P17



Keterangan: M: DNA marker 100 basepair, K-: Kontrol negatif (non DNA template), Pn:Sampel ke-n, bp:basepair

**Gambar 4.** Hasil amplifikasi PCR gen VDR sampel P9-P17

Pada Gambar 4, didapatkan hasil amplifikasi PCR gen VDR sampel P9 hingga P17 dengan gambaran satu pita berukuran 524 bp. Hal ini menunjukkan teramplifikasinya gen VDR pada sampel P9 hingga P17. Hasil ampfilikasi PCR gen VDR sampel P18 hingga P26 dapat dilihat pada Gambar 5.



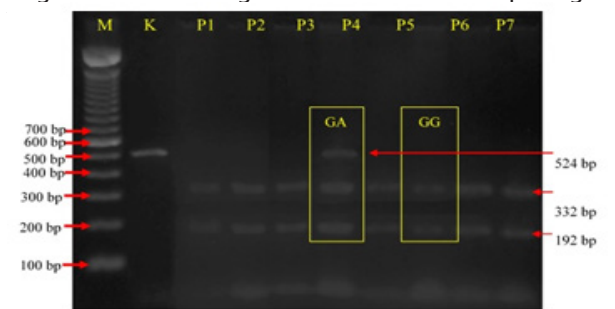
Keterangan: M: DNA marker 100 basepair, K-: Kontrol negatif (non DNA template), Pn:Sampel ke-n, bp:basepair

**Gambar 5.** Hasil amplifikasi PCR gen VDR sampel P18-P26

Pada Gambar 5, didapatkan hasil amplifikasi PCR gen VDR sampel P18 hingga P26 dengan gambaran satu pita berukuran 524 bp. Hal ini menunjukkan teramplifikasinya gen VDR pada sampel P18 hingga P26. Hasil amplifikasi sampel DNA yang telah divisualisasi dan menghasilkan pita berukuran 524 bp menunjukkan



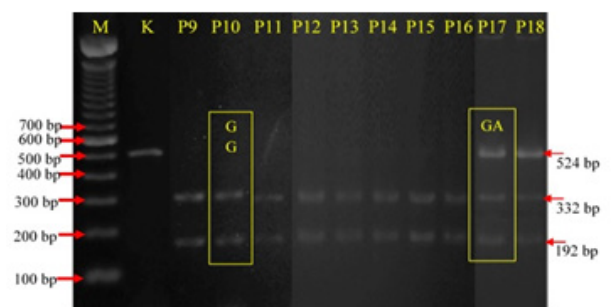
sampel yang positif mengandung gen VDR. Seluruh sampel yang didapat menunjukkan seluruh sampel positif mengandung gen VDR. Setelah didapatkan pita DNA spesifik, selanjutnya dilakukan digesti enzim. Pemotongan gen VDR dilakukan dengan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) menggunakan enzim restriksi BsmI. Sebanyak 10 µL amplicon DNA, 2 µL 10X buffer BsmI, dan 1 µL enzim restriksi BsmI dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL dan diinkubasi selama 3-4 jam dalam suhu 65°C. Proses selanjutnya setelah dilakukan inkubasi, dilakukan inaktivasi enzim pada suhu 80°C selama 20 menit bertujuan agar enzim tidak memotong terus menerus. Produk hasil digesti enzim BsmI gen VDR selanjutnya divisualisasi pada gel agarose 1,5% dengan voltage 80 volt dan 300 ampere selama 60 menit. Hasil visualisasi fragmen DNA hasil digesti enzim restriksi BsmI pada gen



Keterangan: M: DNA marker 100 basepair, K-: Kontrol negatif (non DNA template), Pn:Sampel ke-n, bp:basepair

**Gambar 6.** Hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR sampel P1-P8

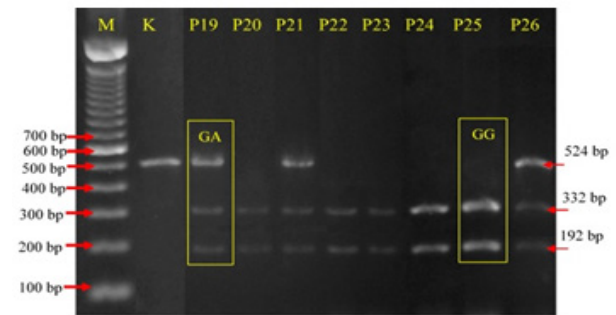
Pada Gambar 6, didapatkan hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR pada sampel P1 sampai P8. Pada sampel P1 hingga P8 didapatkan dua bentuk genotip yaitu genotip homozigot normal (*wild type*) GG dan heterozigot GA. Genotip homozigot normal GG digambarkan dengan terdapat dua pita berukuran 192 bp dan 332 bp. Genotip heterozigot GA digambarkan dengan terbentuk tiga pita berukuran 192 bp, 332 bp, dan 524 bp. Pada Gambar 6 terdapat genotip GG sebanyak 7 sampel pada sampel P1, P2, P3, P5, P6, dan P7, sedangkan genotip GA sebanyak 1 sampel pada sampel P4. Hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR pada sampel P9 sampai P18 dapat dilihat Gambar 7.



Keterangan: M: DNA marker 100 basepair, K-: Kontrol negatif (non DNA template), Pn:Sampel ke-n, bp:basepair

**Gambar 7.** Hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR sampel P9-P18

Pada Gambar 7, didapatkan hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR pada sampel P9 hingga P18. Pada sampel P9 hingga P18 didapatkan dua bentuk genotip yaitu genotip homozigot normal (*wild type*) GG dan heterozigot GA. Pada Gambar 7. terdapat genotip GG sebanyak 8 sampel pada sampel P9, P10, P11, P12, P13, P14, P15, dan P16, sedangkan genotip GA sebanyak 2 sampel pada sampel P17 dan P18. Hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR pada sampel P19 sampai P26 dapat dilihat pada Gambar 8.



Keterangan: M: DNA marker 100 basepair, K-: Kontrol negatif (non DNA template), Pn:Sampel ke-n, bp:basepair

**Gambar 8.** Hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR sampel P19-P26

Pada Gambar 8, didapatkan hasil digesti enzim restriksi BsmI gen VDR pada sampel P19 hingga P26. Pada sampel P19 hingga P26 didapatkan dua bentuk genotip yaitu genotip homozigot normal (*wild type*) GG dan heterozigot GA. Pada Gambar 4.9 terdapat genotip GG sebanyak 5 sampel pada sampel P20, P22, P23, P24, dan P25, sedangkan genotip GA sebanyak 3 sampel pada sampel P19, P21, dan P26.

Berdasarkan penelitian terhadap 26 subjek penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas didapatkan distribusi genotip GG sebanyak 20 (76,9%), genotip GA sebanyak 6 (23,1%), dan genotip AA sebanyak 0 (0%). Analisis polimorfisme gen VDR penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas dilakukan dengan menghitung proporsi frekuensi alel dan  $\chi^2$  terhadap genotip dan alotip gen VDR dengan *software Court Lab Hardy-Weinberg Equilibrium* (HWE) (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil perhitungan genotip dan alotip gen VDR BsmI (rs1544410) penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas dengan *Court Lab Hardy-Weinberg Equilibrium*

Genotypes	Observed #	Expected #
Homozygote reference	20	20,3
Heterozygote	6	5,3
Homozygote variant	0	0,3
Var allele freq.	0,12	
$\chi^2$	0,442344045	
$\chi^2$ test P value	0,505993	with 1 degree of freedom

Berdasarkan Tabel 2, didapatkan frekuensi alel (*wild type*) G sebesar 0,88 (88%) dan frekuensi alel A (mutan) sebesar 0,12 (12%) penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas. Hasil uji  $X^2$  sebesar 0,44 dengan  $p = 0,50$ . Jika  $p < 0,05$  menunjukkan tidak sesuai dengan prinsip HWE. Pada penelitian ini nilai  $p > 0,05$ .

## PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan subjek sebanyak 26 orang penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas. Berdasarkan Gambar 1. jumlah penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas menurut jenis kelamin lebih banyak diderita oleh laki-laki dibandingkan dengan perempuan. Presentasi laki-laki yang menderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas sebesar 58% dan perempuan sebesar 42%. Hal ini terjadi karena beberapa faktor risiko terjadinya periodontitis kronis seperti kebiasaan merokok dan psikologis.

Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2010, jumlah perokok laki-laki di Indonesia 16 kali lebih banyak dibandingkan dengan perempuan dengan frekuensi laki-laki yang merokok sebesar 65,8% penduduk Indonesia. Studi yang dilakukan Clarke et al. dalam (Amin,2014), menyatakan kebiasaan merokok menjadi faktor predisposisi periodontitis kronis karena kandungan nikotin dalam rokok dapat menyebabkan vasokonstriksi gingiva yang membuat penyerapan nikotin ke dalam aliran darah gingiva (Amin,2014). Selain kebiasaan merokok, hal lain yang menyebabkan laki-laki lebih tinggi dibandingkan perempuan dalam menderita periodontitis kronis karena psikologis perilaku dalam menjaga kesehatan gigi dan mulut yang kurang dibandingkan dengan perempuan. Hal ini diduga pada laki-laki cenderung lebih tidak memperhatikan diri mereka sendiri dibandingkan dengan perempuan (Setya Ningsih,2015).

Berdasarkan usia yang menderita periodontitis kronis, pada penelitian ini didominasi kelompok usia 36 sampai 60 tahun sebesar 58% serta pada usai lanjut diatas 60 tahun sebesar 27% (Gambar 2.). Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh (Newman et al.,2019), menyatakan periodontitis kronis dipegaruhi oleh faktor penuaan atau usia yang biasanya terjadi pada usia di atas 35 tahun (Newman et al.,2019). Hal ini juga didukung oleh Taize (2004), menyatakan peningkatan prevalensi periodontitis kronis dengan meningkatnya usia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Taize (2004), kelompok usia 41-50 tahun yang menderita periodontitis kronis sebesar 46,9% dan pada kelompok usia 51-60 tahun sebesar 31,3% serta diperkirakan 3 kali lebih tinggi pada individu yang berusia 30 tahun atau lebih (de Macêdo et al.,2006).

Polimorfisme gen VDR BsmI yang ada pada Suku Jawa Banyumas memiliki nilai yang berbeda dengan etnis atau populasi lain. Pada penelitian yang dilakukan (Andre G. Uitterlinden et al.,2004), penderita periodontitis kronis etnis Kaukasia di memiliki distribusi dan frekuensi alel gen VDR yang berbeda dengan penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas etnis Asia. Pada penelitian yang dilakukan (Andre G. Uitterlinden et al.,2004), didapatkan frekuensi alel mutan (alel A) sebesar 42%. Hal ini lebih tinggi dibandingkan pada Suku Jawa Banyumas dengan frekuensi sebesar 12% (Uitterlinden et al.,2004).

Jika dibandingkan dengan populasi Libya etnis Afrika pada penelitian yang dilakukan (El Jilani et al.,2015), penderita periodontitis kronis etnis Afrika di Libya memiliki distribusi dan frekuensi alel gen VDR yang berbeda dengan penderita periodontitis kronis pada Suku Jawa Banyumas etnis Asia. Pada penelitian terhadap 75 penderita periodontitis kronis yang dilakukan (El Jilani et al.,2015), didapatkan distribusi genotip GG sebanyak 21 (28%), genotip GA sebanyak 47 (62,6%), dan genotip AA sebanyak 7 (9,3%) dengan frekuensi alel mutan (alel A) sebesar 40,7%. Hal ini lebih tinggi dibandingkan pada Suku Jawa Banyumas dengan frekuensi sebesar 13%, namun lebih rendah dibandingkan dengan etnis Kaukasia sebesar 42% (El Jilani et al.,2015).

Pada populasi lain dengan etnis yang sama (Asia) terhadap 97 penderita periodontitis kronis pada penelitian yang dilakukan di Jepang oleh (Naito et al.,2007), didapatkan frekuensi alel mutan (alel C) yang lebih rendah yaitu sebesar 9,8% dengan distribusi genotip GG sebanyak 78 (80,4%), genotip GA sebanyak 19 (19,6%), dan tidak ada genotip AA (Naito et al.,2007). Hal ini lebih rendah dibandingkan pada Suku Jawa Banyumas. Pada penelitian yang dilakukan (Ho et al.,2017) etnis Asia lain yang lebih dekat dengan Indonesia di Taiwan, didapatkan frekuensi alel mutan (alel C) yang juga lebih rendah yaitu sebesar 10,6% pada 385 orang dengan distribusi genotip GG sebanyak 308 (80%), genotip GA sebanyak 72 (18,7%), dan genotip AA sebanyak 5 (1,3%) (Ho et al.,2017).

Frekuensi alel mutan lebih tinggi pada Suku Jawa Banyumas dibandingkan dengan populasi di Taiwan dan populasi di Jepang dikarenakan proses pembentukan populasi Jawa yang lebih *outbreeding* seperti adanya migrasi penduduk. Hal ini dibuktikan berdasarkan survei penduduk antar sensus tahun 2005, jumlah migrasi masuk dan keluar dari Pulau Jawa sebesar 42,6% dan 57,4% dari 7.781.156 orang (Wajdi,2010). Hal ini mengalami peningkatan dari tahun 1990 yang hanya berjumlah lima juta orang. Berdasarkan frekuensi alel mutan yang lebih tinggi pada Suku Jawa Banyumas dibandingkan dengan populasi di Taiwan dan populasi di Jepang memiliki arti, bahwa Suku Jawa Banyumas lebih rentan atau berisiko terhadap penyakit

periodontitis kronis dibandingkan dengan populasi di Taiwan dan populasi di Jepang.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan Distribusi genotip gen vitamin D *receptor* (VDR) Bsm1 (rs1544410) penderita periodontitis kronis Suku Jawa Banyumas didapatkan genotip GG sebanyak 20 (76,9%), genotip GA sebanyak 6 (23,1%), dan genotip AA sebanyak 0 (0%). Frekuensi alotip gen vitamin D *receptor* (VDR) Bsm1 (rs1544410) penderita periodontitis kronis Suku Jawa Banyumas didapatkan frekuensi alel G (*wild type*) sebesar 0,88 (88%) dan frekuensi alel A (mutan) sebesar 0,12 (12%).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM UNSOED yang telah mendanai penelitian ini melalui skim Riset Peningkatan Kompetensi. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak yang terkait dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Amin, A., 2014. The Analysis Mutation of the CARD15 Gene Variants in Chronic Periodontitis. *Am. J. Clin. Exp. Med.* 2, 117.

Borges, M.A.T., de Figueiredo, L.C., de Brito Jr, R.B., Faveri, M., Feres, M., 2009. Microbiological Composition Associated with Vitamin D Receptor Gene Polymorphism in Chronic Periodontitis. *Braz. Oral Res.* 23, 203–208.

Brett, P.M., Zygogianni, P., Griffiths, G.S., Tomaz, M., Parkar, M., D’Aiuto, F., Tonetti, M., 2005. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J. Dent. Res.* 84, 1149–1153.

de Brito Junior, R.B., Mantuanelli, S.-C.R., Trevilatto, P.C., Souza, A.P., Barros, S.P., 2004. Polymorphisms in The Vitamin D Receptor Gene Are Associated with Periodontal Disease. *J. Periodontol.* 75, 1090–1095.

de Macêdo, T.C.N., da Conceição N Costa, M., Gomes-Filho, I.S., Vianna, M.I.P., Santos, C.T., 2006. Factors Related to Periodontal Disease in A Rural Population. *Braz. Oral Res.* 20, 257–262.

Dinas Kesehatan Kabupaten Banyumas, 2011. Profil Kesehatan Kabupaten Banyumas Tahun 2011.

El Jilani, M.M., Mohamed, A.A., Zeglam, H. Ben, Alhudiri, I.M., Ramadan, A.M., Saleh, S.S., Elkabir, M., Amer, I. Ben, Ashammakhi, N., Enattah, N.S., 2015. Association Between Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis among Libyans. *Libyan J. Med.* 10.

Fedi, P., Vernono, A., Grey, J., 2004. *Silabus Periodonti.* EGC.

Gunes, S., Sumer, A.P., Keles, G.C., Kara, N., Koprulu, H., Bagci, H., Bek, Y., 2008. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Indian J. Med. Res.* 127, 58–64.

Hamrun Nurlinda, dan H.M., 2011. Polimorfisme Gen Vitamin D Receptor Pada Penderita Periodontitis Kronis. *J. Kesehat.* 1, 166.

Haussler, M.R., Haussler, C.A., Whitfield, G.K., Hsieh, J.C., Thompson, P.D., Barthel, T.K., Bartik, L., Egan, J.B., Wu, Y., Kubicek, J.L., Lowmiller, C.L., Moffet, E.W., Forster, R.E., Jurutka, P.W., 2010. The nuclear vitamin D receptor controls the expression of genes encoding factors which feed the “Fountain of Youth” to mediate healthful aging. *Natl. Institutes Heal.* 23, 1–7.

Ho, Y.P., Lin, Y.C., Yang, Y.H., Chou, Y.H., Ho, K.Y., Wu, Y.M., Tsai, C.C., 2017. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and periodontitis in a Taiwanese Han population. *J. Dent. Sci.* 12, 360–367.

Naito, M., Miyaki, K., Naito, T., Zhang, L., Hoshi, K., Hara, A., Masaki, K., Tohyama, S., Muramatsu, M., Hamajima, N., Nakayama, T., 2007. Association between Vitamin D Receptor Gene Haplotypes and Chronic Periodontitis among Japanese Men. *Int. J. Med. Sci.* 4, 216–222.

Newman, M., Takei, H., Klokkevold, P., Carranza, F., 2019. *Newman and Carranza’s Clinical Periodontology Thirteenth Edition*, 13 th. ed.

Setya Ningsih, D., 2015. *ubungan Jenis Kelamin Terhadap Kebersihan Rongga Mulut Anak Panti Asuhan.* *Odonto Dent. J.* 2, 14–19.

Uitterlinden, Andre G., Fang, Y., Van Meurs, J.B.J., Pols, H.A.P., Leeuwen, J.P.T.M. Van, 2004. Genetics and Biology of Vitamin D Receptor Polymorphism. *Gene* 1, 143–156.

Uitterlinden, André G., Fang, Y., Van Meurs, J.B.J., Pols, H.A.P., Van Leeuwen, J.P.T.M., 2004. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 338, 143–156.

Valdivielso, J.M., Fernandez, E., 2006. Vitamin D Receptor Polymorphisms and Diseases. *Clin. Chim. Acta* 371, 1–12.

Wajdi, M.N., 2010. *Migrasi Antar Pulau di Indonesia.* Tesis, Pascasarj. Kependud. dan Ketenagakerjaan Univ. Indones.

Wang, H., Tan, B., Zhaoa, B., Liang, C., Xu, Z., 2013. Raw Data Based Iterative Reconstruction Versus Filtered Back Projection: Image Quality of Low-Dose Chest Computed Tomography Examinations in 87 Patients. *Clin. Imaging* 37, 1024–1032.