

EVALUASI REAKTIVITAS SILANG DAN ALERGENISITAS PROTEIN ALERGEN β -PARVALBUMIN IKAN TUNA (*Thunnus sp.*) DENGAN METODE BIOINFORMATIKA DAN EKSPERIMENTAL

HANIF ILHAM RAMADHAN FATRIANSYAH



**PROGRAM STUDI ILMU PANGAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA *

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Evaluasi Reaktivitas Silang dan Alergenisitas Protein Alergen β -Parvalbumin Ikan Tuna (*Thunnus sp.*) dengan Metode Bioinformatika dan Eksperimental” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2025



Hanif Ilham Ramdhan Fatriansyah
F2501201008



RINGKASAN

HANIF ILHAM RAMADHAN FATRIANSYAH. Evaluasi Reaktivitas Silang dan Alergenisitas Protein Alergen β -Parvalbumin Ikan Tuna (*Thunnus sp.*) dengan Metode Bioinformatika dan Eksperimental. Dibimbing oleh NURHENI SRI PALUPI, ENDANG PRANGDIMURTI, dan HENDRA WIJAYA.

Alergi ikan adalah suatu reaksi alergi yang diperantai IgE ketika suatu individu terpapar zat alergen pada ikan. Salah satu penyebab alergi ikan adalah β -parvalbumin, protein alergen mayor yang banyak ditemukan pada ikan tuna. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi reaktivitas silang dan alergenisitas protein alergen β -Parvalbumin ikan tuna (*Thunnus sp.*) dengan metode bioinformatika dan eksperimental. Penelitian dilaksanakan melalui tiga tahapan, yaitu identifikasi dan karakterisasi fisikokimia β -parvalbumin serta verifikasi alergenisitas alergen ikan tuna, prediksi, evaluasi, dan verifikasi struktur 3D β -parvalbumin, prediksi dan verifikasi reaktivitas silang protein alergen β -parvalbumin. Analisis *family* dilakukan menggunakan server Pfam v29.0, analisis fisikokimia menggunakan server ProtParam dan Prosite, verifikasi alergenisitas dilakukan menggunakan server AllerTOP, AllerCatPro, AllergenFP, dan Allpred. Server yang digunakan untuk memprediksi dan mengevaluasi struktur 3D adalah SWISSMODEL, verifikasi struktur 3D dilakukan menggunakan server UCLA, dan server yang digunakan untuk memprediksi terjadinya reaktivitas silang yaitu Fermi. Bahan yang digunakan berupa sekuens protein alergen β -parvalbumin (*Thu a 1*) yang diunduh dalam format FASTA dari server <http://www.allergen.org/>. Verifikasi di laboratorium menggunakan ikan patin, ikan mas, dan ikan makarel dengan menggunakan uji bradford, SDS-PAGE, dan *immunoblotting*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa β -Parvalbumin (*Thu a 1*) merupakan protein alergen pada ikan tuna dengan karakteristik alergen yang stabil, termasuk *family* parvalbumin yang berfungsi mengikat ion kalsium (Ca^{2+}), memiliki pola karakteristik berupa pola *EF HAND CALCIUM BINDING*, tersusun dari 109 asam amino dengan berat molekul 11 Kda, bersifat hidrofilik, dan strukturnya terdiri dari α -heliks dan β -sheet. Prediksi struktur 3D β -Parvalbumin (*Thu a 1*) memiliki nilai identitas sekuens yaitu 83,49%, GMQE dengan nilai 0,96, nilai QMEAN 0,80, dengan persentasi 97,20% residu asam amino terdapat pada daerah yang diizinkan, nilai *molprobability* 0,85. Hasil verifikasi menunjukkan nilai prediksi model sebesar 82,57% dan mendapatkan kategori Pass. Hasil tertinggi pada prediksi reaktivitas silang yang didapatkan adalah alergen *Cyp c 1* yaitu alergen pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang memiliki persentase urutan asam amino tertinggi dengan ikan tuna, sehingga diprediksi jika individu menderita alergi tuna, besar kemungkinan individu tersebut juga mampu alergi dengan ikan mas. Hal ini dibuktikan dengan verifikasi di laboratorium menggunakan metode *immunoblotting* dimana sampel ekstrak protein ikan mas bereaksi spesifik dengan *antibody* anti parvalbumin.

Kata kunci: *alergen, β -parvalbumin, ikan tuna, in silico, in vitro*

SUMMARY

HANIF ILHAM RAMADHAN FATRIANSYAH. Evaluation of Cross-Reactivity and Allergenicity of Tuna Fish (*Thunnus sp.*) Allergen Protein β -Parvalbumin with Bioinformatic and Experimental Methods. Supervised by NURHENI SRI PALUPI, ENDANG PRANGDIMURTI, dan HENDRA WIJAYA

Fish allergy is an IgE-mediated allergic reaction that occurs when an individual is exposed to an allergen in fish. One cause of fish allergies is β -parvalbumin, a major allergenic protein found in high concentrations in tuna. This study aims to obtain comprehensive information on the allergenic characteristics of tuna β -parvalbumin in silico and to verify cross-reactivity predictions in vitro. The research was conducted in three stages: identification and physicochemical characterization of β -parvalbumin, verification of the allergenicity of tuna fish allergens, prediction, evaluation, and verification of the 3D structure of β -parvalbumin, and prediction and verification of cross-reactivity of β -parvalbumin allergen proteins. Family analysis was performed using the Pfam v29.0 server, physicochemical analysis using the ProtParam and Prosite servers, allergenicity verification using the AllerTOP, AllerCatPro, AllergenFP, and Algpred servers. The server used to predict and evaluate 3D structure was SWISSMODEL, 3D structure verification was performed using the UCLA server, and the server used to predict cross-reactivity was Fermi. The material used was the allergen protein sequence β -parvalbumin (*Thu a 1*), which was downloaded in FASTA format from the server <http://www.allergen.org/>. Laboratory verification was conducted using catfish, carp, and mackerel with the Bradford assay, SDS-PAGE, and immunoblotting.

The research results indicate that β -Parvalbumin (*Thu a 1*) is an allergenic protein in tuna with stable allergenic characteristics. It belongs to the parvalbumin family, which binds calcium ions (Ca^{2+}), exhibits a characteristic pattern of EF_HAND CALCIUM BINDING, is composed of 109 amino acids with a molecular weight of 11 kDa, is hydrophilic, and its structure consists of α -helices and β -sheets. The 3D structure prediction of β -Parvalbumin (*Thu a 1*) has a sequence identity value of 83.49%, a GMQE value of 0.96, a QMEAN value of 0.80, with 97.20% of amino acid residues located in allowed regions, and a molprobit score of 0.85. The verification results show a model prediction value of 82.57% and receive a "Pass" category. The highest result for cross-reactivity prediction was obtained for the allergen *Cyp c 1*, which is the allergen found in carp (*Cyprinus carpio*). This allergen has the highest percentage of sequence identity with tuna, so it is predicted that if an individual is allergic to tuna, there is a high probability that they will also be allergic to carp. This is evidenced by laboratory verification using the immunoblotting method, where the carp protein extract samples reacted specifically with anti-parvalbumin antibodies.

Keywords: *alergen, β -parvalbumin, ikan tuna, in silico, in vitro*



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, Tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

EVALUASI REAKTIVITAS SILANG DAN ALERGENISITAS PROTEIN ALERGEN β -PARVALBUMIN IKAN TUNA (*Thunnus sp.*) DENGAN METODE BIOINFORMATIKA DAN EKSPERIMENTAL

@Hak cipta milik IPB University

HANIF ILHAM RAMADHAN FATRIANSYAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Pangan

**PROGRAM STUDI ILMU PANGAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Evaluasi Reaktivitas Silang dan Alergenisitas Protein Alergen β -Parvalbumin Ikan Tuna (*Thunnus sp.*) dengan Metode Bioinformatika dan Eksperimental

Nama : Hanif Ilham Ramadhan Fatriansyah

NIM : F2501201008

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Prof. Dr. Nurheni Sri Palupi, M. Si



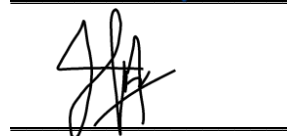
Pembimbing 2:

Dr. Ir. Endang Prangdimurti, M.Si



Pembimbing 3:

Dr. Hendra Wijaya S,Si, M.Si



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Ir. Harsi D. Kusumaningrum

NIP 196405021993032004



Dekan Fakultas Teknologi Pertanian:

Prof. Dr. Ir. Slamet Budijanto, M.Agr

NIP 196105021986031002



Tanggal Ujian: 15 Juli 2025

Tanggal Pengesahan: 4 Agustus 2025



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanaahu Wa Ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga tesis ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam tesis yang dilaksanakan sejak bulan januari 2023 sampai bulan januari 2025 ini ialah studi alergen integratif menggunakan metode *in silico* dan *in vitro* dengan judul “Evaluasi Reaktivitas Silang dan Alergenisitas Protein Alergen β -Parvalbumin Ikan Tuna (*Thunnus sp.*) dengan Metode Bioinformatika dan Eksperimental”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing yaitu Ibu Prof. Dr. Nurheni Sri Palupi, M. Si., M.Sc. selaku ketua komisi pembimbing dan Ibu Dr. Ir. Endang Prangdimurti, M.Si. dan bapak Dr. Hendra Wijaya S,Si, M.Si selaku anggota komisi pembimbing, yang telah membimbing, memberi saran, masukan, koreksi, meluangkan waktu untuk membimbing penulis dalam penyusunan tesis ini, dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis agar tetap menyelesaikan studi S2. Terima kasih yang tidak terkira penulis sampaikan kepada orang tua penulis yaitu Bapak Fauzan Murdapa dan Ibu Tri Winarsih, mas Alif Ilham Akbar Fatriansyah dan adik Adinda Karina Raihanadya Mutriandari. Tidak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada istri tercinta Tiffani Sindia Sihwidi dan anak Arkana Nadhif Handia Fatriansyah yang selalu menemani dan memberikan dukungan kepada penulisserta kepada teman-teman yang telah memberikan dukungan baik moril dan materil dalam penyelesaian tesis ini.

Semoga tesis ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan demi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2025



digitally signed
ds:ign:ipb.ac.id

Hanif Ilham Ramadhan Fatriansyah



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
1.6 Ruang Lingkup	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Alergi	4
2.2 Ikan Tuna (<i>Thunnus sp.</i>)	6
2.3 Protein Alergen pada Ikan Tuna (β -Parvalbumin)	8
2.4 Metode <i>In Silico</i>	11
III METODE	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Tahapan Penelitian	14
3.4 Prosedur Analisis	20
3.5 Analisis Data	24
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Identitas, Karakteristik Fisikokimia β -Parvalbumin, dan Verifikasi Alergenitas Protein Alergen Ikan Tuna	25
4.2 Prediksi, Evaluasi, dan Verifikasi Struktur 3D β -Parvalbumin Ikan Tuna	27
4.3 Prediksi Reaktivitas Silang dan Verifikasi Hasil Prediksi di Laboratorium	33
V SIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Simpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	54
RIWAYAT HIDUP	63

DAFTAR TABEL

1	Komposisi ikan tuna per 100 g	7
2	Hasil verifikasi alergenitas protein alergen pada ikan tuna	27
3	Hasil penentuan protein alergen terpilih pada ikan tuna	27
4	Hasil evaluasi pemodelan struktur 3D alergen β -Parvalbumin (<i>Thu a 1</i>)	30
5	Penentuan objek verifikasi prediksi reaktivitas silang di laboratorium	37
6	Kadar protein terlarut ikan patin, makarel, dan mas	38

DAFTAR GAMBAR

1	Reaksi hipersensitivitas tipe I	6
2	Ikan tuna (<i>Thunnus Sp.</i>)	7
3	Produksi ikan tuna di Indonesia (dimodifikasi dari Widi (2022))	8
4	Struktur kimia parvalbumin	9
5	Kerangka penelitian	15
6	Penentuan <i>family</i> , karakteristik fisikokimia β -parvalbumin	16
7	Penentuan sekuens protein alergen terpilih	17
8	Pembuatan model, evaluasi model,	18
9	Prediksi reaktivitas silang	19
10	Verifikasi prediksi reaktivitas silang	20
11	Hasil identifikasi <i>family Thu a 1</i>	26
12	Hasil karakterisasi fisikokimia <i>Thu a 1</i>	26
13	Konfirmasi belum adanya informasi struktur 3D pada RCSB PDB	28
14	Cetakan alergen β -Parvalbumin (<i>Thu a 1</i>)	28
15	Hasil prediksi struktur 3D alergen β -Parvalbumin (<i>Thu a 1</i>)	29
16	Hasil ramachandran plot alergen β -Parvalbumin (<i>Thu a 1</i>)	29
17	Posisi model (Bintang merah) pada sebaran nilai Z-score <1	31
18	Kualitas model lokal per residu alergen β -Parvalbumin	32
19	Tampilan server UCLA-DOE LAB - SAVES v6.0	32
20	Hasil verifikasi prediksi struktur 3D	33
21	Hasil prediksi reaktivitas silang grup I	34
22	Perbandingan struktur 3D β -Parvalbumin dan alergen <i>Sco_j</i>	34
23	Perbandingan struktur 3D β -Parvalbumin dan alergen <i>Cyp_c_1.01</i>	35
24	Hasil prediksi reaktivitas silang grup II	36
25	Perbandingan struktur 3D β -Parvalbumin dan	36
26	Ikan mas, ikan patin, dan ikan makarel	37
27	Hasil SDS-PAGE	40
28	Intensitas pita protein hasil SDS PAGE	40
29	Hasil analisis <i>immunoblotting</i>	42
30	Intensitas pita protein hasil <i>immunoblotting</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

1	Kurva Standar Abs-Blanko uji bradford	55
2	Hasil Analisis Protein terlarut Bradford	56
3	Daftar Terminologi	57
4	Dokumentasi verifikasi di laboratorium	58

59
71

5 Hasil uji in silico
6 Hasil uji laboratorium

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.