

**TINGKAT ALERGENISITAS KACANG METE
BERDASARKAN PROFIL INTERAKSI ALERGEN ANA O 3
DAN IMUNOGLOBULIN SECARA *IN-SILICO***

SOFIA MALIK



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Tingkat Alergenisitas Kacang Mete berdasarkan Profil Interaksi Alergen *Ana* o 3 dan Immunoglobulin secara *In-Silico*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun 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, Agustus 2024

Sofia Malik
F2502202013

RINGKASAN

SOFIA MALIK. Tingkat Alergenisitas Kacang Mete berdasarkan Profil Interaksi Alergen Ana o 3 dan Immunoglobulin secara In-Silico. Dibimbing oleh NURHENI SRI PALUPI 1, AZIS BOING SITANGGANG, dan HENDRA WIJAYA.

Terapi makanan hipoalergenik bertujuan untuk menciptakan produk dengan alergenitas yang berkurang, sehingga aman dikonsumsi bagi individu yang sensitif. Proses pengolahan pangan dapat membuat struktur alergen berubah dan mempengaruhi alergenitasnya. Kacang mete, khususnya alergen *Ana o 3*, menyebabkan reaksi alergi yang signifikan. Proses pangan seperti pemanasan dan fermentasi dalam proses pengolahan kacang mete bukan hanya berfungsi untuk memperpanjang umur simpan tetapi juga dapat mempengaruhi afinitas protein *Ana o 3* dengan immunoglobulin. Pada penelitian ini mensimulasi perlakuan panas pada protein *Ana o 3*. Simulasi panas pada suhu ruang, pasteurisasi, UHT, pemanggangan, dan pengaruh pH lingkungan pada fermentasi dilakukan untuk menilai perubahan alergenitas dengan mengevaluasi afinitas pengikatan antara *Ana o 3* dan Immunoglobulin E (IgE) secara *in-silico*. Penelitian menggunakan secara *in-silico* memiliki beberapa kelebihan, yaitu waktu yang relatif lebih singkat, biaya yang relatif lebih murah, dan pemahaman yang lebih mendalam karena penelitian dilakukan pada skala molekuler sehingga dapat mengetahui mekanisme yang terjadi dalam prosesnya.

Sekuen *Ana o 3* diperoleh dari database Uniprot dan dihasilkan pemodelan dengan nilai validasi terbaik menggunakan webserver AlphaFold2. Sekuen IgE dimodelkan berdasarkan antibodi monoklonal PA12P3D08. Model IgE PA12P3D08 dilakukan mutasi glisin pada posisi 57 menjadi triptofan di daerah *light chain* dan mutasi leusin pada posisi 100C menjadi asam glutamat di daerah *heavy chain* untuk meningkatkan afinitas terhadap *Ana o 3*. Simulasi dinamika molekul dengan Gromacs menilai perubahan struktural pada berbagai suhu yang merepresentasikan proses pengolahan pangan. Perubahan pH lingkungan untuk mengkondisikan lingkungan selama proses fermentasi. Perubahan pH dilakukan dengan menggunakan webserver Playmol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Ana o 3* stabil secara termal, seperti yang ditunjukkan oleh analisis RMSD, SASA, dan Rg. Perlakuan panas mengurangi nilai energi bebas ikatan *Ana o 3*. Pada suhu 77 °C, afinitas menurun sebesar 30% menjadi -75.9 kJ/mol. pada suhu 87 °C, afinitas menurun sebesar 33% menjadi -73.9 kJ/mol. Pada suhu 127 °C, afinitas menurun sebesar 40% menjadi -65.9 kJ/mol. Pada rentang pH 4-4.5 perubahan muatan protein dapat menurunkan afinitas sekitar 5-10% menjadi -69.92 hingga -66.23 kJ/mol.

Kata kunci: alergen, docking protein-protein, immunoglobulin, *in-silico*, simulasi dinamika molekul

SUMMARY

SOFIA MALIK. *In-silico Analysis of cashew nut allergenicity: interaction profiles of Ana o 3 and imunoglobulin*. Supervised by NURHENI SRI PALUPI, AZIS BOING SITANGGANG, and HENDRA WIJAYA.

Hypoallergenic food therapy aims to create products with reduced allergenicity, making them safe for consumption by sensitive individuals. Food processing can alter the structure of allergens and affect their allergenicity. Cashew nuts, particularly the *Ana o 3* allergen, cause significant allergic reactions. Food processes such as heating and fermentation in cashew processing not only extend shelf life but also influence the affinity of *Ana o 3* protein with immunoglobulin. This study simulates heat treatment on *Ana o 3* protein. Heat simulations at room temperature, pasteurization, UHT, roasting, and the environmental pH effects during fermentation were conducted to assess allergenicity changes by evaluating the binding affinity between *Ana o 3* and Immunoglobulin E (IgE) in silico. Using in silico methods offers several advantages, such as shorter timeframes, lower costs, and deeper understanding at the molecular level, allowing for insights into the mechanisms involved.

The *Ana o 3* sequence was obtained from the Uniprot database, and modeling with the best validation values was performed using the AlphaFold2 webserver. The IgE sequence was modeled based on the monoclonal antibody PA12P3D08. Mutations were made to the IgE PA12P3D08 model: glycine at position 57 was changed to tryptophan in the light chain region, and leucine at position 100C was changed to glutamic acid in the heavy chain region to increase affinity for *Ana o 3*. Molecular dynamics simulations with Gromacs assessed structural changes at various temperatures representing food processing. Environmental pH changes to simulate fermentation conditions were performed using the Playmol webserver.

The results showed that *Ana o 3* is thermally stable, as indicated by RMSD, SASA, and Rg analyses. Heat treatment reduced the energi bebas ikatan of *Ana o 3*. At 77°C, affinity decreased by 30% to -75.9 kJ/mol. At 87°C, affinity decreased by 33% to -73.9 kJ/mol. At 127°C, affinity decreased by 40% to -65.9 kJ/mol. In the pH range of 4-4.5, changes in protein charge reduced affinity by approximately 5-10%, to -69.92 to -66.23 kJ/mol.

Keywords: *allergen, imunoglobulin, in-silico, molecular dynamic simulation, protein-protein docking*

© Hak Cipta milik IPB, tahun 20XX¹
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.

**TINGKAT ALERGENISITAS KACANG METE
BERDASARKAN PROFIL INTERAKSI ALERGEN ANA O 3
DAN IMUNOGLOBULIN SECARA *IN-SILICO***

SOFIA MALIK

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

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

- 1 Dr. Saraswati, S.Pi
- 2 Nama lengkap dan gelar

Judul Tesis : Tingkat Alergenisitas Kacang Mete berdasarkan Profil Interaksi
Alergen *Ana o 3* dan Imunoglobulin secara *In-Silico*
Nama : Sofia Malik
NIM : F2502202013

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Prof. Dr. Ir. Nurheni Sri Palupi, M.Si
NIP 19610802 198703 2 002



Pembimbing 2:

Prof. Dr.ing Azis Boing Sitanggang, S.T.P. M.Sc
NIP 19860911 201012 1 007



Pembimbing 3:

Dr. Hendra Wijaya, M.Si S.Si

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized initials, positioned above a horizontal line.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Dr. Nur Wulandari, S.T.P. M.Si
NIP 19741003 200003 2 001



Dekan Fakultas Teknologi Pertanian:

Prof. Dr. Ir. Slamet Budijanto, M.Agr.
NIP 196105021986031002



Tanggal Ujian:
(2 Agustus 2024)

Tanggal Lulus:
(9 Agustus 2024)

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan April 2024 sampai bulan Februari 2024 dengan judul “Tingkat Alergenisitas Kacang Mete Berdasarkan Profil Interaksi Alergen *Ana o 3* dan Imunoglobulin secara *In-Silico*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Ibu Prof. Dr. Ir. Nurheni Sri Palupi, M.Si, Bapak Prof. Dr.ing Azis Boing Sitanggang, S.T.P. M.Sc, dan Bapak Dr. Hendra Wijaya, M.Si S.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada moderator seminar, dan penguji luar komisi pembimbing. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah dan ibu yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya sehingga tetap semangat untuk menyelesaikan kewajiban ini hingga akhir.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2024

Sofia Malik

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	x
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
II METODE	4
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Kerja	4
III HASIL DAN PEMBAHASAN	8
3.1 Prediksi struktur alergen <i>Ana o 3</i> dan <i>Ara h 2</i>	8
3.2 Prediksi struktur IgE	11
3.3 <i>Docking</i> IgE- <i>Ara h 2</i> dan IgE- <i>Ana o 3</i>	12
3.4 Mutasi IgE	13
3.5 RMSD	15
3.6 RMSF	17
3.7 SASA	17
3.8 Jari-jari girasi	19
3.9 Net Charge alergen <i>Ana o 3</i>	20
IV PEMBAHASAN	22
4.1 Karakteristik <i>Ana o 3</i>	22
4.2 Efek simulasi panas	23
4.3 Efek pH	23
4.4 Afinitas setelah pemanasan	26
V SIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Simpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	30
RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

1	Hasil evaluasi struktur protein pada keempat pemodelan	9
2	Hasil evaluasi struktur protein setelah <i>refinement</i>	10
3	Hasil evaluasi struktur protein <i>Ara h 2</i>	11
4	<i>Alanine scanning residue</i> IgE PA12P3D08 dan <i>Ana o 3</i>	15
5	Perubahan afinitas <i>Ana o 3</i> terhadap IgE _{mutan} pada kondisi pH yang berbeda	25

DAFTAR GAMBAR

1	Hasil prediksi protein <i>Ana o 3</i> dengan (A) AlphaFold2 (B) I-TASSER (C) MODELLER dan (D) SWISS-Model	8
2	Struktur prediksi protein AlphaFold2 sebelum (hijau) dan sesudah (biru) proses perbaikan menggunakan ModRefine	10
3	Struktur protein <i>Ara h 2</i>	10
4	Hasil prediksi IgE <i>humanize</i> dari sekuen PA12P3D08	12
5	Ikatan Hidrogen yang terbentuk antara Gly57 dan Ile26	14
6	Ikatan hidrogen (warna kuning) dan jembatan garam (warna ungu) yang terbentuk antara Glu100C dan Arg85	15
7	RMSD protein <i>Ana o 3</i> suhu 27 °C, 77 °C, 87 °C, 127 °C dalam larutan berair sedangkan suhu 177 °C kadar air 5%	16
8	RMSF protein <i>Ana o 3</i> suhu 27 °C, 77 °C, 87 °C, 127 °C dalam larutan berair sedangkan suhu 177 °C kadar air 5%	17
9	SASA protein <i>Ana o 3</i> suhu 27 °C, 77 °C, 87 °C, 127 °C dalam larutan berair sedangkan suhu 177 °C kadar air 5%	18
10	Jari-jari girasi protein <i>Ana o 3</i> suhu 27 °C, 77 °C, 87 °C, 127 °C dalam larutan berair sedangkan suhu 177 °C kadar air 5%	19
11	Kurva titrasi <i>Ana o 3</i>	20
12	Hasil Muatan permukaan protein <i>Ana o 3</i> , warna biru (muatan positif), muatan merah (muatan negatif), dan warna putih (tidak bermuatan)	21
13	Pemetaan interaksi jembatan garam anatar IgE _{mutan} - <i>Ana o</i>	23
14	Sekuen asam amino <i>Ana o 3</i> yang bermuatan positif (biru) bermuatan negatif (merah)	24
15	Pemetaan epitop <i>Ana o 3</i> pada berbagai kondisi pH	25

DAFTAR LAMPIRAN

1	<i>Residue scanning alanine</i> pada 53 residu yang terlibat dalam interaksi IgE- <i>Ana o 3</i>
2	<i>Saturation mutagenesis</i> untuk interaksi IgE PA12P3D08 – <i>Ana o 3</i>
3	Interaksi antara IgE dengan <i>Ana o 3</i> sebelum dan sesudah mutasi