

Penentuan Alergenisitas Protein Gen *RB* pada Kentang Produk Rekayasa Genetika Berdasarkan Studi Bioinformatika

(Determination of Protein Allergenicity of *RB* Gene in Genetically Engineered Potato Based on Bioinformatic Study)

Eny I. Riyanti*, Edy Listanto, dan A. Dinar Ambarwati

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: enyir2@yahoo.com.au

Diajukan: 27 Juli 2015; Direvisi: 28 Agustus 2015; Diterima: 22 Oktober 2015

ABSTRACT

Genetically modified products (GMP) of Katahdin potato event SP951 containing *RB* gene resistant to late blight diseases caused by *Phytophthora infestans* has been developed in the USA. This Katahdin SP951 potato has been crossed with local varieties Atlantic and Granola for its development in Indonesia. In the release process, the GMP potato should be tested for environmental and food safety. One of the food safety assessment needs to be done by determining allergenicity of *RB* protein whether it is potential as allergen. This research aims to translate the *RB* gene sequence into *RB* protein sequence and investigate the potential *RB* protein as an allergen through bioinformatic studies. This study was performed based on the alignment with available protein allergens from available database websites. The predicted *RB* protein obtained from 2,913 amino acids *RB* gene was a 971 amino acids length protein with ATG as a start codon and TAA as a stop codon. Bioinformatics studies of *RB* protein were performed using www.allergenonline.com, consisted of three searches, i.e. full-length search by FASTA, 80 amino acids search by FASTA, and 8 amino acid exact matches. For full-length alignment search, there are three allergen proteins similar with *RB* protein sequence with the percentage identity of <35%, while for alignment with 80 amino acids and 8 amino acids did not show similarity with any allergen protein in the database. It can be concluded that *RB* protein did not have any potential as an allergen, as according to Codex Alimentarius guidelines for full-length alignment search, only protein with identity greater than >50% indicating possible cross reactivity with protein allergen.

Keywords: Allergenicity, *RB* gene, bioinformatic.

ABSTRAK

Tanaman kentang produk rekayasa genetika (PRG) Katahdin SP951 mengandung gen *RB* tahan penyakit hawar daun yang disebabkan oleh *Phytophthora infestans* telah dirakit di Amerika Serikat. Tanaman tersebut telah disilangkan dengan varietas lokal Atlantic dan Granola untuk dikembangkan di Indonesia. Dalam proses pelepasannya, tanaman PRG ini harus melalui kajian keamanan lingkungan dan keamanan pangan. Salah satu kajian keamanan pangan yang perlu dilakukan adalah penentuan alergenitas, apakah protein gen *RB* berpotensi sebagai alergen. Penelitian ini bertujuan mengetahui sekuen protein gen *RB* menggunakan studi bioinformatika dan mengetahui berpotensi tidaknya protein gen *RB* sebagai alergen berdasarkan penajajaran dengan protein-protein alergen dari situs-situs basis data protein yang tersedia. Dari hasil prediksi gen *RB* (2.913 bp) dari DNA tanaman PRG Katahdin SP951 dengan teknik bioinformatika, didapatkan protein *RB* dengan panjang 971 asam amino dengan kodon awal ATG dan kodon akhir TAA. Studi penajajaran sekuen protein *RB* dengan basis data protein alergen pada situs www.allergenonline.com dilakukan melalui tiga tahap, yaitu penajajaran *full-length* dengan FASTA, dengan fragmen 80 asam amino, dan menggunakan sekuen pendek 8 asam amino. Dari penajajaran *full-length*, diketahui terdapat tiga protein alergen yang mempunyai persentase kesamaan kurang dari 35% dengan protein gen *RB*, sedangkan pada penajajaran dengan 80 asam amino dan 8 asam amino tidak terdapat kesamaan dengan protein alergen pada basis data. Dari hasil studi bioinformatika ini dapat disimpulkan bahwa protein *RB* tidak berpotensi sebagai alergen.

Kata kunci: Alergenisitas, gen *RB*, bioinformatika.

PENDAHULUAN

Pemenuhan kebutuhan pangan dan peningkatan kualitas pangan telah mendorong berkembangnya teknologi rekayasa genetika dalam produksi pangan. Salah satu keunggulan penerapan teknologi rekayasa genetika pada tumbuhan atau hewan adalah dapat dihasilkannya produk yang lebih cepat dan akurat daripada seleksi secara tradisional (Verma *et al.*, 2011). Pengembangan kentang produk rekayasa genetika (PRG) tahan penyakit hawar daun *Phytophthora infestans* telah dilakukan melalui persilangan antara tanaman Katahdin *event* SP951 dan kentang non-PRG Atlantic dan Granola. Kentang PRG Katahdin SP951 tahan penyakit hawar daun *P. infestans* dirakit menggunakan gen *RB* yang diisolasi dari kerabat liarnya (*Solanum bulbocastanum*) dan telah diuji selama beberapa tahun di Amerika Serikat dan Meksiko (Halterman *et al.*, 2008; Halterman dan Middleton, 2012; Naess *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2003; van der Vossen *et al.*, 2003).

Berdasarkan hasil uji efikasi di lapangan uji terbatas (LUT), enam galur hasil persilangan menunjukkan ketahanan terhadap penyakit hawar daun (Ambarwati *et al.*, 2009, 2011). Hasil resekuensing gen *RB* yang terdapat pada tanaman PRG Katahdin SP951 telah dianalisis dan dibandingkan dengan sekuen gen *RB* yang berasal dari tanaman *S. bulbocastanum* dan dari plasmid pCLD04541 (Hadiarto *et al.*, 2015). Hasil tersebut menunjukkan kestabilan dan tidak adanya perubahan gen *RB*, serta menunjukkan kestabilannya pada beberapa generasi (Listanto *et al.*, 2015). Selain itu, tanaman kentang hasil penelitian tersebut juga telah dievaluasi pengaruhnya terhadap mikroba tanah dan hama penyakit alamiah dan tidak menunjukkan adanya pengaruh secara signifikan (Riyanti *et al.*, 2014).

Pelepasan tanaman PRG di Indonesia perlu memperhatikan sifat kehati-hatian dengan terbitnya Undang-Undang No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan. Dalam UU itu, terutama Pasal 13, disinggung soal produk pangan hasil rekayasa genetika. Pasal tersebut menyatakan bahwa produk pangan hasil rekayasa genetika harus diuji keamanan pangannya terlebih dahulu sebelum diedarkan secara komersial. Berkaitan dengan pengkajian keamanan pangan tanaman PRG, telah dirilis Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan tentang Pengkajian Keamanan Pangan Produk Rekayasa Genetika dengan peraturan serupa No. HK.03.1.23.03.12.1563 Tahun 2012. Berdasarkan ketentuan-ketentuan tersebut, perlu adanya kajian lebih lanjut tentang keamanan pangan, uji alergenitas kentang PRG khususnya.

Studi bioinformatika merupakan komponen kunci dari Codex Alimentarius tahun 2009 untuk penilaian adanya potensi alergen dari suatu protein baru. Peraturan dalam penilaian keamanan pangan suatu PRG mewajibkan untuk melakukan perbandingan sekuen protein baru atau adanya fusi protein suatu gen dengan protein alergen yang diketahui (Ladics *et al.*, 2011).

Pencarian kesamaan (*identical*) urutan asam amino memiliki keterbatasan tertentu, seperti terbatas pada alergen yang dikenal pada basis data yang tersedia untuk umum dan literatur ilmiah. Terdapat pula keterbatasan dalam kemampuan perbandingan tersebut untuk mendeteksi *noncontiguous epitope* yang mampu mengikat diri secara khusus dengan antibodi IgE. Hasil pencarian homologi yang negatif menunjukkan bahwa protein introduksi dinyatakan tidak bersifat alergen dan tidak menimbulkan reaksi silang (*cross-reaction*) terhadap alergen yang sudah diketahui. Beberapa basis data yang dapat diakses publik menunjukkan bahwa di antara ratusan hingga ribuan protein yang ada di alam, hanya sedikit yang menyebabkan alergi. Sebagai contoh, pada basis data Swiss-Prot/UniProt (<http://www.uniprot.org>) yang memuat lebih dari 546.790 *sequences entri* (29 Oktober 2014), hanya ditemukan sekitar 1.706 asam amino sekuen alergen (termasuk isoalergen) (*Allergen online* versi ke-14 yang diperbarui pada tanggal 20 Januari 2014) yang digolongkan ke dalam 645 kelompok taksonomi-protein.

Penelitian ini bertujuan mengetahui sekuen protein gen *RB* menggunakan studi bioinformatika dan mengetahui berpotensi tidaknya protein gen *RB* ini sebagai alergen berdasarkan peninjauan dengan basis data protein-protein alergen dari situs-situs basis data protein yang tersedia.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah sekuen *full-length* gen *RB* (2.913 Kb) dan perangkat lunak FASTA versi 35.04, ExPASy *Translate tool*, dan BLASTP. Berdasarkan analisis peninjauan (*alignment*), hasil sekuen gen *RB* yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya, sekuen gen *RB* tersebut 100% identik dengan sekuen gen *RB* yang ada pada plasmid pCLD04541 (Gambar 1) (Hadiarto *et al.*, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa gen *RB* yang diintroduksi ke dalam tanaman kentang tidak mengalami perubahan sekuennya.

Prediksi Sekuen Protein *RB* Berdasarkan Sekuen DNA

Sekuen protein produk gen *RB* diprediksi dengan menggunakan situs <http://web.expasy.org/translate/>. Situs ini merupakan alat untuk menerjemahkan sekuen DNA atau RNA menjadi sekuen protein dengan beberapa alternatif *open reading frame* (ORF). Dari beberapa ORF ini, dipilih satu ORF yang sesuai untuk prediksi protein *RB*.

Kemiripan Sekuen Protein *RB* dengan Sekuen Protein-protein Alergen

Pencarian asam amino, untuk mengevaluasi protein baru pada tanaman hasil rekayasa genetika atau makanan baru, dan perbandingan sekuen protein baru dengan urutan protein alergen yang ada pada basis data dapat dilakukan melalui situs AllergenOnline (2010). Pencarian dilakukan dengan berbasis sistem algoritma dengan menggunakan perangkat lunak FASTA atau BLASTP. Pencarian dilakukan pada keseluruhan dan pada fragmen urutan asam amino yang bersebelahan secara bertahap (*full-length*, 80 asam amino, dan 8 asam amino). Besaran ukuran asam amino ini berdasarkan hasil studi terdahulu untuk meminimalkan adanya kemungkinan hasil *false negative* atau *false positive*. Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi sekuen-sekuen yang kemungkinan menyerupai *epitope* protein alergen.

Penjajaran protein *full-length* dengan FASTA versi 35.04 (15 Januari 2009) dianggap yang paling mendekati. Bila protein baru memiliki kemiripan sekitar 50% dengan protein pada basis data, memungkinkan terjadinya reaksi silang (Aalberse, 2000). Namun, perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan pergeseran (*sliding*) sepanjang 80 asam amino. Penelusuran dengan menggunakan *sliding window protocols* terhadap 80 asam amino dari setiap protein dilakukan untuk menemukan sekuen protein yang memiliki kemiripan lebih besar dari 35%, sesuai pedoman Codex Alimentarius (2005).

Metode lain yang digunakan untuk mengetahui kemungkinan terjadinya reaksi silang dengan alergen melalui keberadaan *epitope* adalah dengan pembacaan (*scanning*) pada sekuen pendek 8 asam amino. Penelusuran terhadap sekuen pendek ini dilakukan untuk menentukan kemiripan protein *RB* dengan protein alergen yang ada pada basis data.

Beberapa situs dapat digunakan untuk memprediksi apakah sekuen protein dari gen yang disisipkan pada proses rekayasa organisme berpotensi menjadi sumber alergen atau tidak, yaitu www.allergen.org, www.allergome.org, www.meduniwien.ac.at/allergen/allfam, www.allergen.nihs.go.jp/ADFS, www.allergen.csl.gov.uk/index.htm, www.allermatch.org, <http://research.i2r.a-star.edu.sg/allertool>, <http://web.allergen.bii.a-star.edu.sg>, <http://www.imtec.res.in/raghava/algpred>, <http://Fermi.utmb.edu/SDAP/>, dan <http://www.allergenonline.org/>. Situs yang digunakan dalam penelitian ini adalah <http://www.allergenonline.org/> (AllergenOnline, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Prediksi Sekuen Protein *RB* Berdasarkan Sekuen DNA

Hasil sekuen nukleotida gen *RB* (2.913 bp) yang berasal dari cDNA tanaman kentang Katahdin SP951 ditranslasikan menjadi sekuen protein berdasarkan metode yang ada pada situs [www.expasy.org](http://web.expasy.org). Proses translasi dilakukan melalui pembacaan dari *frame* 5' ke *frame* 3', juga dilakukan dengan arah sebaliknya, menggunakan tiga kombinasi ORF. Berdasarkan proses translasi menggunakan enam macam ORF, ditemukan hanya satu ORF yang mendekati kemiripan, yaitu ORF dengan kodon awal asam amino metionin (ATG) dan kodon akhir alanin (TAA), dengan arah pembacaan dari *frame* 5' ke *frame* 3' ORF, yang menghasilkan 971 asam amino (Gambar 2).

Hasil translasi protein tersebut kemudian dikonfirmasi kemiripannya menggunakan metode BLAST yang terdapat pada situs NCBI <http://>

> *RB* gene cDNA from transgenic Katahdin SP951, 2,913 bp.

```
ATGGCTGAAGCTTTTCATTCAAGTTCTGCTAGACAATCTCACTTCTTTCTCAAGGGGAACCTTGTA
TTGCTTTTCGGTTTTCAAGATGAGTTCCAAAGGCTTTCAAGCATGTTTTCTACAATTCAAGCCGTC
CTTGAAGATGCTCAGGAGAAAGCAACTCAACAACCAAGCCTCTAGAAAATTGGTTGCAAAAACTCAA
TGCTGCTACATATGAAGTCGATGACATCTTGGATGAATATAAAACCAAGGCCACAAGATTCTC

CTTGCAAATCTCAAATACTTGACAATCTCTCGGTGCAATAATCTCAAAGAGCTGCCTACCAGCTTG
GCTAGTCTGAATGCTTTGAAAAGTCTAAAAATTCAATTGTGTTGCGCACTAGAGAGTCTCCCTGA
GGAAGGGCTGGAAGGTTTATCTTCACTCACAGAGTTATTTGTTGAACACTGTAACATGCTAAAAT
GTTTACCAGAGGGATTGCAGCACCTAACAACCCTCACAAGTTTAAAAATTGCGGGGATGTCCACAA
CTGATCAAGCGGTGTGAGAAGGGAATAGGAGAAGACTGGCACAAAATTTCTCACATTCTAATGT
GAATATATATATTTAA
```

Gambar 1. Sekuen nukleotida gen *RB* dari tanaman Katahdin SP951.

blast.bemdn.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. Berdasarkan hasil BLAST, protein tersebut mempunyai kemiripan yang paling tinggi sekitar 99% bila dibanding dengan protein *resistance gene analog* (RGA) yang merupakan protein ketahanan terhadap penyakit hawar daun dan berasal dari tanaman *S. bulbocastanum* aksesori Q7XBQ9.1. Hasil translasi ini didukung oleh laporan Bradeen *et al.* (2003), Halterman *et al.* (2008), dan Song *et al.* (2003), yang menyebutkan bahwa tanaman kentang transgenik Katahdin SP951 mengandung gen *RB* yang diisolasi dari kromosom ke-8 kentang liar *S. bulbocastanum*. Hasil peninjauan ulang menggunakan BLAST ini dilakukan sebagai pembuktian stabilitas gen *RB* yang terdapat pada tanaman kentang transgenik Katahdin SP951, apakah masih seperti gen *RB* yang berasal dari *S. bulbocastanum*. Hasil peninjauan protein *RB* pada situs NCBI ditampilkan pada Tabel 1.

Hasil peninjauan sekuen-sekuen protein *RB* ini kemudian diuji kemiripannya dengan sekuen protein-protein alergen yang tersedia pada basis data alergen.

Kemiripan Sekuen Protein *RB* dengan Sekuen Protein-protein Alergen

Pencarian kesamaan asam amino protein *RB* secara *full-length*

Dari hasil pencarian kemiripan berdasarkan metode yang terdapat pada situs AllergenOnline (2010) dalam bentuk asam amino *full-length*, ditemukan bahwa sekuen protein *RB* terdiri atas 971 asam amino. Berdasarkan pencarian tersebut, didapatkan tiga entri pencarian yang muncul. Entri pertama dengan nilai tertinggi Smith-Waterman 103 dan memiliki kesamaan sebesar 20% terhadap sekuen asam amino protein *RB* (kemiripan 60,6%) dan terdapat 132 asam amino *overlap* dengan alergen nomor AA073464 yang dideskripsikan sebagai *HDM allergen (Dermatophagoid)* yang berasal dari *Dermatophagoides pteronyssinus (European house dust mite)*. Entri kedua dengan nilai Smith-Waterman sebesar 96 dan memiliki kesamaan sebesar 21% (kemiripan 59,4%), mengandung 133 asam amino yang *overlap* dengan protein alergen nomor >gi|42559514|sp|Q967Z0.1 yang dideskripsikan sebagai *RecName: Full = Paramyosin; AltName: Full = Antigen Df642; AltName: Allergen = Der f 11*

MAEAFIQVLLDNLTSFLKGEVLVLLFGFQDEFQRLSSMFSTIQAVLEDAQEKLNNKPLEN
WLQKLNAAATYEVDDILDEYKTKATRFQSEYGRYHPKVIPIFRHKVGRMDQVMKKLKAIA
EERKNFHLHEKIVERQAVRRETGSVLTEPQVYGRDKEDEIVKILINNVSDAQHLSVLPI
LGMGGGLGKTTLAQMVFNDRVTEHFHSHKIWCVSEDFDEKRLIKAIVESIEGRPLLGEML
LAPLQKKLQELLNGKRYLLVDDVWNEQQKWANLRAVLKVGASGASVLTTRLEKVGSI
MGTLPYELSNLSQEDCWLLFMQRAFGHQEEINPNLVAIGKEIVKKSGGVPLAAKTLGGI
LCFKREERAWEHVRDSPIWNLQDESSILPALRLSYHQLPLDLKQCFAYCAVFPKDAKMK
KEKLISLWMAHGFLLSKGNMELEDVGDEVWKEYLRSFFQEIEVKDGKTYFKMHDLIHDL
ATSLFSANTSSNIREINKHSYTHMMSIGFAEVVFFYTLPPLEKFISLRVLNLGDSTFNK
LPSSIGDLVHLRYNLNGSGMRSLPKQLCKLQNLQTLDLQYCTKLCCLPKETSGLSLRN
LLLDGSQSLTCMPPRIGSLTCLKTLGQFVVGRRKGYQLGELGNLNGYSIKISHLERVKN
DMDAKEANLSAKGNLHSLSMSWNNFGPHIYESEEVKLEALKPHSNLTSLKIYGFGRGIHL
PEWMNHSVLKNIVSILISNFRNCSCPLPPGDLPCLESLHWSADVEYVEEVDIDVHSG
FPTRIRFPRLRLDIWDFGSLKGLLKEGEEQFPVLEEMIIHECPFLTLSSNLRALTSR
ICYNKVATSFPEEMFKNLANLKYLTISRCNNLKELPTSLASLNALKSLKQLCCALESPL
EEGLEGLSSLTELFVEHCNMLKCLPEGLQHLTTLSLKIRGCPQLIKRCEKGIGEDWHKI
SHIPNVNIYI-

Gambar 2. Prediksi sekuen asam amino protein *RB* hasil analisis translasi melalui pembacaan dari *frame 5'* ke *frame 3'*.

Tabel 1. Hasil BLAST protein *RB* pada situs NCBI.

Deskripsi	Skor maksimum	Skor total	Query cover	E-value	Identity	Akses
<i>RecName: Full=Disease resistance protein RGA2; AltName: Full=Blight resistance protein RPI; AltName: Full=RGA2-blb [Solanum bulbocastanum]</i>	1990	1990	100%	0,0	99%	Q7XBQ9.1
<i>Disease resistance protein RGA2, putative [Solanum bulbocastanum]</i>	1904	1904	100%	0,0	97%	AAP45188.2
<i>Disease resistance protein RGA2, putative [Solanum bulbocastanum]</i>	1799	1832	99%	0,0	95%	AAP45164.2
<i>Blight resistance protein RGA3 [Solanum bulbocastanum]</i>	1554	1554	99%	0,0	80%	AAR29071.1

Skor maksimum = jumlah maksimum yang digunakan untuk mengakses temuan biologi yang relevan (*A number used to assess the biological relevance of a finding*), Skor total = jumlah data yang mempunyai kesamaan sekuen, *Query cover* = *query coverage* (sekuen yang diinput yang mempunyai kesamaan dengan sekuen subjek), *E-value* = nilai harapan/*expectation*, *Identity* = persentase nilai kesamaan dua sekuen yang mempunyai residu yang sama pada posisi yang sama.

Tabel 2. Daftar tiga entri protein alergen yang mempunyai kesamaan dengan protein RB dalam pencarian asam amino *full-length*.

Skor terbaik	<i>opt</i>	<i>z-sc</i>	<i>E(1706)</i>	<i>%_id</i>	<i>% sim</i>	<i>alen</i>
gi 37778944 gb AAO73464.1 HDM allergen [Dermatophagoid (875)	103	116,5	0,19	0,205	0,606	132
gi 42559514 sp Q96720.1 MYSP_DERFA RecName: Full=Paramy (692)	96	109,4	0,47	0,218	0,594	133
gi 21954740 gb AAM83103.1 paramyosin allergen [Blomia (875)	95	106,6	0,67	0,227	0,580	176

opt = *optimised score*, *z-sc* = nilai *z-score* (pengukuran dalam statistik untuk menunjukkan hubungan nilai skor dengan nilai rata-rata dari kelompok skor), *E(1706)* = nilai ekspektasi dari 1706 sekuen, *%_id* = *% identity* (persentase asam amino yang identik), *% sim* = *% similarity* (persentase kemiripan asam amino), *alen* = *alignment length*.

yang berasal dari *D. farina* (*American house dust mite*). Entri ketiga memiliki nilai Smith-Waterman sebesar 95 dengan kesamaan sebesar 22,7% (kemiripan 58,0%), mengandung 176 asam amino yang *overlap* dengan protein alergen nomor >>[gi|21954740|gb|AAM83103.1](#) yang dideskripsikan sebagai *paramyosin allergen* yang berasal dari *Blomia tropicalis*. Ketiga entri tersebut mempunyai nilai kesamaan di bawah 50% atau dikatakan aman karena menurut peraturan keamanan pangan yang diatur dalam Codex Alimentarius disebutkan bahwa protein introduksi yang mempunyai kesamaan kurang dari 50% dikatakan aman. Daftar protein alergen yang muncul pada pencarian *full-length* dengan FASTA ditampilkan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, penjabaran secara random ditentukan juga oleh nilai *E-score* (*E-value*). *E-score* (skor harapan) adalah ukuran statistik kemungkinan bahwa skor kesamaan yang diamati bisa terjadi secara kebetulan dalam pencarian. *E-score* adalah parameter yang menerangkan jumlah hit yang dihasilkan oleh basis data dengan ukuran tertentu. Nilai *E-score* yang lebih besar, lebih positif, menunjukkan tingkat kesamaan yang lebih rendah antara urutan protein yang dianalisis dibanding dengan urutan yang ada pada basis data. Biasanya, keberpihakan antara dua urutan harus memiliki *E-score* yang lebih kecil dari 1×10^{-5} dan dianggap memiliki homologi yang signifikan. Dalam hal ini, nilai *E-score* terkecil adalah 0,19 (Tabel 2) sehingga dapat dikatakan antara protein RB dan *HDM allergen* tidak signifikan homologi, baik secara struktural maupun fungsional (Pearson, 2000).

Pencarian kesamaan sekuen asam amino protein RB sepanjang delapan puluh asam amino

Dari hasil pencarian kesamaan sekuen asam amino protein RB sepanjang 80 asam amino tidak ditemukan adanya protein alergen yang homolog dengan fragmen 80 asam amino protein RB.

Pencarian kesamaan sekuen asam amino protein RB sepanjang delapan asam amino

Sekuen asam amino protein RB sepanjang 8 asam amino tidak ada yang homolog dengan sekuen asam amino protein alergen yang ada pada basis data. Penggunaan metode pencarian ini sebagai bentuk kehati-hatian, apakah ada bagian protein RB yang menyerupai protein alergen yang ada pada basis data. Hasil ini dapat meyakinkan bahwa tidak ada alasan untuk mengkhawatirkan munculnya *epitope* alergen atau reaksi silang atau imun terhadap manusia yang disebabkan oleh protein produk gen *RB*.

Berdasarkan hasil penelusuran protein RB tersebut, kekhawatiran yang berlebihan akan dampak negatif PRG sebenarnya tidak perlu terjadi karena perakitan tanaman PRG menggunakan teknik yang mempunyai presisi lebih tinggi dalam menyisipkan gen yang telah diketahui struktur dan fungsinya, serta bagian yang disisipkan ke dalam genom organisme target sangat spesifik dan mudah dimonitor keberadaannya dibanding dengan proses rekombinasi yang acak. Sebaliknya, rekombinasi acak seperti pada proses persilangan akan lebih sulit dideteksi.

KESIMPULAN

Studi bioinformatika homologi protein RB dengan protein-protein alergen menunjukkan bahwa protein RB secara *full-length* homolog dengan tiga protein alergen, namun nilai kesamaannya jauh di bawah ambang batas. Untuk fragmen 80 asam amino dan sekuen pendek 8 asam amino, tidak ditemukan kemiripan antara protein RB dan protein alergen pada basis data. Dengan demikian, protein RB merupakan protein yang tidak berpotensi sebagai alergen terhadap manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian pembentukan tanaman kentang tahan penyakit hawar daun yang dibiayai oleh ABSPII dan APBN DIPA TA 2015. Penulis mengucapkan terima kasih

banyak kepada Prof. Muhamad Herman sebagai *Country Coordinator* Proyek ABSPII.

DAFTAR PUSTAKA

- Aalberse, R.C. 2000. Molecular mechanism in allergy and clinical immunology. *J. Allergy Clin. Immunol.* 106(2):288–239.
- AllergenOnline. 2010. The Food Allergy Research and Resource Program (FARRP) allergen protein database. <http://www.allergenonline.org/> (diakses 29 Oktober 2014).
- Ambarwati, A.D., M. Herman, A. Purwito, S.M. Sumaraw, and H. Aswidinnoor. 2011. Resistance evaluation on populations of crosses between transgenic potato Katahdin *RB* and nontransgenic Atlantic and Granola to late blight (*Phytophthora infestans*) in confined field trial. *IJAS* 12(1):33–39.
- Ambarwati, A.D., A. Purwito, M. Herman, S.M. Sumaraw, dan H. Aswidinnoor. 2009. Analisis integrasi dan segregasi gen ketahanan terhadap hawar daun pada progeni F_1 hasil persilangan tanaman kentang transgenik dengan nontransgenik. *J. AgroBiogen* 5(1):25–31.
- Bradeen, J.M., S.K. Naess, J. Song, G.T. Haberlach, S.M. Wielgus, C.R. Buell, J. Jiang, and J.P. Helgeson. 2003. Concomitant reiterative BAC walking and fine genetic mapping enable physical map development for the broad-spectrum late blight resistance region, *RB*. *Mol. Gen. Genomics* 269:603–611.
- Codex Alimentarius. 2005. International Food Standard, World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations.
- FAO. 1996. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Biotechnology and Food Safety. Rome, Italy, 30 September to 4 October 1996.
- Hadiarto, T., E.I. Riyanti, E. Listanto, dan M. Herman. 2015. Identifikasi cDNA gen *RB* pada tanaman kentang produk rekayasa genetika Katahdin SP951. *J. AgroBiogen* 11(2):59–64.
- Halterman, D., L.C. Kramer, S. Wielgus, and J. Jiang. 2008. Performance of transgenic potato containing the late blight resistance gene *RB*. *Plant Dis.* 92(3):339–343.
- Halterman, D.A. and G. Middleton. 2012. Presence of the potato late blight resistance gene *RB* does not promote adaptive parasitism of *Phytophthora infestans*. *Am. J. Plant Sci.* 3:360–367.
- Herman, M. 2009. Pengaturan keamanan tanaman PRG di Indonesia. Dalam: B. Purwantara dan M. Thohari, editor, Tanaman produk rekayasa genetik dan kebijakan pengembangannya. Vol. 2. Status global tanaman produk rekayasa genetik dan regulasinya. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor. hlm. 105–132.
- Ladics, G.S., R.F. Cressman, C. Herouet-Guicheney, R.A. Herman, L. Privalle, P. Song, J.M. Ward, and S. McClain. 2011. Bioinformatics and the allergy assessment of agricultural biotechnology products: Industry practices and recommendations. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 60:46–53.
- Listanto, E., E.I. Riyanti, T.J. Santoso, T. Hadiarto, and A.D. Ambarwati. 2015. Genetic stability analysis of *RB* gene in genetically modified potato lines tolerant to *Phytophthora infestans*. *IJAS* 16(2):51–58.
- Naess, S.K., J.M. Bradeen, S.M. Wielgus, G.T. Haberlach, J.M. McGrath, and J.P. Helgeson. 2000. Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theor. Appl. Genet.* 101:697–704.
- Pearson, W.R. 2000. Flexible sequence similarity searching with the FASTA3 program package. *Methods Mol. Biol.* 132:185–121.
- Riyanti, E.I., E. Listanto, and A.D. Ambarwati. 2014. Effects of late blight resistant potato containing *RB* gene on the soil microbes, pests, and plant diseases. *IJAS* 15(2):47–54.
- Song, J., J.M. Bradeen, S.K. Naess, J.A. Raasch, S.M. Wielgus, G.T. Haberlach, J. Liu, H. Kuang, S. Austin-Phillips, C.R. Buell, J.P. Helgeson, and J. Jiang. 2003. Gene *AB* cloned from *Solanum tuberosum* L. confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100:9128–9133.
- van der Vossen, E., A. Sikkema, Bt. Hekkert, J. Gros, P. Stevens, M. Muskens, D. Wouters, A. Pereira, W. Stiekema, and S. Allefs. 2003. An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *Plant J.* 36:867–882.
- Verma, C., S. Nanda, R.K. Singh, R.B. Singh, and S. Mishra. 2011. A review on impacts of genetically modified food on human health. *Open Nutraceuticals J.* 4:3–11.