

ISU GLOBAL KEAMANAN PANGAN KACANG TANAH II: PROTEIN Ara h SEBAGAI ALERGEN

Eriyanto Yusnawan^{1*}, C.P. Marquis², N.A. Lee²

ABSTRAK

Isu global keamanan pangan kacang tanah II: protein Ara h sebagai alergen. Konsumsi kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dapat menimbulkan alergi dengan gejala ringan hingga berat, bahkan dapat menimbulkan kematian bagi pasien yang hipersensitif. Peristiwa ini umum terjadi di negara-negara barat, sehingga menjadi salah satu isu global keamanan pangan kacang tanah. Konsumsi kacang tanah dalam jumlah yang sedikit, mulai dari 100 µg mampu memicu terjadinya alergi. Hingga saat ini terdapat 13 protein kacang tanah, yaitu Ara h1 hingga Ara h13 yang sudah diidentifikasi dan dikarakterisasi. Mayoritas sumber alergen tersebut termasuk dalam *seed storage protein*. Di antara ke-13 protein Ara h tersebut, Ara h1, Ara h2 dan Ara h3 dikategorikan sebagai alergen utama karena dapat dikenali oleh > 50% serum IgE pasien. Ara h1 dan Ara h2 bersifat tahan terhadap perlakuan suhu dan enzim pencernaan. Tulisan ini mengulas secara komprehensif isu alergen yang disebabkan oleh protein Ara h dan beberapa pendekatan yang sudah dilakukan untuk mengurangi terjadinya alergi ditinjau dari aspek penurunan kandungan Ara h. Beberapa pendekatan untuk mengeliminasi Ara h pada kacang tanah antara lain pengolahan, rekayasa genetika, pemuliaan konvensional selektif dan perlakuan menggunakan enzim. Kombinasi dari beberapa perlakuan akan memberikan hasil lebih baik untuk menurunkan kandungan Ara h.

Kata kunci: *Arachis hypogaea*, kacang tanah, alergi, Ara h, *seed storage protein*

ABSTRACT

Global food safety issues of peanut (*Arachis hypogaea* L.) consumption II: Ara h proteins as allergens. The consumption of peanuts may trigger allergenic reaction. The symptoms range from mild to severe symptoms, even death for hypersensitive individuals. The peanut allergy has

become a major food safety and global issue mainly in western countries. Ingestion of traces of peanut protein, 100 µg, can trigger symptoms. So far, 13 peanut proteins, *i.e.* Ara h1 to Ara h13 have been identified and characterized. Most of the Ara h proteins are seed storage proteins. Among these proteins, Ara h1, Ara h2 and Ara h3 are categorized as major peanut allergens since these allergens can be recognized by >50% IgE patient sera. Ara h1 and Ara h2 are resistant to heat treatment and resistant to proteolytic enzymes. This article reviews a comprehensive issue of peanut allergens and approaches to eliminate peanut allergens in relations to the reduction of Ara h proteins. Several approaches have been targeted to reduce the allergenicity, including novel food processing, genetic engineering, selective breeding, and enzymatic treatments. Combination of these approaches may reduce the allergenicity better than individual approach.

Keywords: *Arachis hypogaea*, peanut, allergy, Ara h, seed storage protein

PENDAHULUAN

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang berasal dari Amerika Selatan banyak dikonsumsi dan dibudidayakan petani dan para pelaku agroindustri karena memiliki nilai ekonomis yang tinggi (Sinha dan Bhagat 1988). Di beberapa negara kacang tanah pada umumnya dimanfaatkan minyaknya, tetapi di Amerika Serikat, kacang tanah sebagian besar digunakan sebagai bahan pangan dan bahan baku industri pangan (Tillman dan Stalker 2009). Kacang tanah menjadi salah satu komoditas yang diperdagangkan secara internasional. Pusat kacang tanah tersebar di Asia, Afrika, Amerika Selatan dan Amerika Utara. Cina, India dan Amerika Serikat memiliki kontribusi kurang lebih 70% total produksi dunia per tahun selama kurun waktu 5 tahun (1996–2000). Cina memiliki kontribusi 39%, India sekitar 25% dan Amerika Serikat sekitar 6%. Lebih dari 90% kacang tanah dihasilkan di negara-negara berkembang dan sebagian besar hasil panen dikonsumsi. Hanya sekitar 5% produksi kacang tanah dunia masuk dalam pasar ekspor (Tillman dan Stalker 2009).

Di samping kaya akan kandungan nutrisi, konsumen kacang tanah juga dihadapkan pada

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Jalan Raya Kendalpayak km 8, Kotak Pos 66 Malang, telp. 0341-801468, fax 0341-801496, email; balitkabi@litbang.deptan.go.id

²⁾ The University of New South Wales, Sydney, Australia *e-mail: yusnawan@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 12/3/2012, disetujui untuk diterbitkan tanggal 18/6/2013.

Diterbitkan di Buletin Palawija No. 26-2013: 72–82.

dua isu global keamanan pangan, yaitu kontaminasi aflatoksin dan protein kacang tanah sebagai sumber alergen. Aflatoksin menjadi barier perdagangan kacang tanah internasional karena adanya ambang batas residu maksimum yang ditetapkan oleh masing-masing negara. Kontaminasi aflatoksin disebabkan oleh dua jamur penghasil aflatoksin, yaitu *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus* (Horn *et al.* 2000; Klich 2007). Melalui penanganan pra dan pascapanen yang baik, risiko kontaminasi aflatoksin dapat ditekan (Cleveland *et al.* 2003; Rachaputi *et al.* 2002; Magan dan Aldred 2007; Yusnawan 2013). Isu kedua adalah konsumsi kacang tanah dapat menimbulkan alergi bagi pasien yang sensitif. Gejala bervariasi mulai dari gejala ringan sampai akut yang mengarah ke anafilaksis (*anaphylactic shock*) atau bahkan kematian (Furlong *et al.*; 2001, Sampson 2002). Sampai saat ini 13 protein alergen kacang tanah sudah diidentifikasi, yaitu Ara h1 hingga Ara h13 (van Boxtel *et al.* 2006; 2008, Koppelman *et al.* 2001, 2003; Krause *et al.* 2009; Wen *et al.* 2007; www.allergen.org diakses Oktober 2012). Makalah ini mengulas secara komprehensif isu alergen yang disebabkan oleh protein Ara h dan beberapa pendekatan yang sudah dilakukan untuk mengurangi risiko terjadinya alergi bagi pasien sensitif ditinjau dari aspek penurunan kandungan Ara h dalam biji kacang tanah.

STATUS KACANG TANAH SEBAGAI SUMBER ALERGEN

Beberapa bahan makanan dikategorikan ke dalam sumber alergen. Menurut *Food Allergen Labelling and Consumer Protection Act* (FALCPA), susu, telur, ikan, udang, kacang tanah, kedelai, gandum dan *tree nuts* termasuk dalam penyebab umum alergi di AS (Taylor dan Hefle 2006). Masyarakat Uni Eropa memasukkan seledri, mustard, wijen dan sulfit sebagai penyebab utama alergi selain delapan makanan yang sudah disebutkan (Anandan dan Sheikh 2005), sedangkan wijen dan sulfit juga dimasukkan oleh Australia dan Selandia Baru ke dalam penyebab alergi utama di samping delapan jenis makanan yang telah ditetapkan sebagai sumber alergen (FSANZ 2004). Alergi yang dipicu oleh konsumsi kacang tanah adalah salah satu alergi yang membahayakan bagi pasien yang sensitif dan sifatnya yang tidak dapat disembuhkan hingga pasien memasuki masa dewasa (Sampson dan McCaskill 1985). Hampir semua kejadian alergi kacang tanah dilaporkan di negara-negara barat.

Perkiraan jumlah pasien alergi kacang tanah adalah 0,4–0,6% pada anak-anak dan 0,3–0,7% pada orang dewasa dari total penduduk di negara-negara maju (Emmett *et al.* 1999, Sicherer *et al.* 2003). Awal terjadinya reaksi alergi pada pasien rata-rata pada umur 22 bulan (Sicherer *et al.* 1998). Penderita alergi kacang tanah pada anak-anak meningkat dari 0,4% pada tahun 1997 menjadi 0,8% pada tahun 2002 didasarkan pada studi populasi di AS (Sicherer *et al.* 2003). Di benua Amerika Utara, anafilaksis (gejala alergi parah yang melibatkan beberapa sistem organ termasuk gejala pada kulit, pembengkakan pada kerongkongan dan tekanan darah rendah) yang diakibatkan oleh konsumsi kacang tanah menyebabkan 59% dari 63 kasus kematian (Bock *et al.* 2007), meskipun peristiwa fatal yang terjadi lebih rendah dibandingkan dengan di Inggris, yaitu 19% dari 48 kasus kematian dalam kurun waktu yang sama (Pumphrey dan Gowland 2007).

Di Inggris, jumlah rata-rata penderita alergi kacang tanah pada anak-anak umur antara 4–5 tahun yang lahir pada tahun 1999 hingga 2000 adalah 1,8% (Hourihane *et al.* 2007). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Grundi *et al.* (2002) menemukan adanya pola peningkatan yang sama dalam jumlah penderita alergi kacang tanah usia anak-anak. Peningkatan jumlah penderita pada usia 3–4 tahun yang lahir antara tahun 1994 hingga 1996 adalah dari 0,5% menjadi 1,0% dan terjadi di Isle of Weigh, Inggris.

Kejadian secara tidak sengaja memakan makanan yang mengandung atau terkontaminasi kacang tanah banyak dilaporkan. Hal ini terjadi karena saling berbagi makanan di antara anak-anak, memakan makanan yang mengandung kacang tanah, menggunakan alat masak bekas untuk memasak makanan mengandung kacang tanah baik di rumah maupun industri makanan (Sicherer *et al.* 1998). Yu *et al.* (2006) melaporkan bahwa kejadian secara tidak sengaja memakan produk mengandung kacang tanah berkisar 14,3% pada anak-anak usia sekolah di Montreal, Quebec, Canada. Kejadian alergi kacang tanah di Asia termasuk jarang dan tidak lazim (Shek dan Lee 2006). Hal ini dimungkinkan karena kejadian alergi makanan di Asia jarang dimonitor sehingga jarang dilaporkan.

Interaksi antara genetik (Sicherer *et al.* 2000; Shreffler *et al.* 2006) dan lingkungan (Sicherer dan Sampson 2007) memberikan kontribusi yang besar terjadinya kenaikan jumlah pende-

rita alergi. Awal alergi dimungkinkan terjadi pada janin dalam kandungan ketika ibu yang mengandung mengkonsumsi kacang tanah satu minggu sekali selama kehamilannya. Diet yang mengandung kacang tanah pada anak usia dini juga menjadi pemicu terjadinya reaksi alergi (Frank *et al.* 1999). Air susu yang mengandung protein alergen kacang tanah ditemukan pada ibu menyusui sesudah mengkonsumsi kacang tanah, yang membuktikan terjadinya konsumsi langsung protein alergen pada bayi (Vadas *et al.* 2001). Berlangsungnya konsumsi protein alergen mulai dari janin hingga anak usia dini memungkinkan terjadi peningkatan populasi anak yang sensitif terhadap protein kacang tanah.

DOSIS MINIMUM YANG MEMICU REAKSI ALERGI

Terdapat kontroversi berkaitan dengan penentuan dosis minimum protein kacang tanah yang dapat memicu terjadinya reaksi alergi. Perbedaan pendapat penentuan dosis minimum disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain perbedaan penggunaan standar yang digunakan, perbedaan respons pasien, perbedaan penentuan kelompok usia dan variasi metode yang digunakan untuk uji alergi. Dosis 100 µg kacang tanah mampu memicu terjadinya alergi (Koppelman *et al.* 1999). Hal ini mengindikasikan bahwa dalam jumlah sangat sedikit (*trace*) mampu mengancam keselamatan pasien yang hipersensitif. Dosis yang berbeda ditemukan oleh Wensing *et al.* (2002), di mana kisaran dosis kacang tanah 100–1.000 mg memicu terjadinya alergi, tetapi pada beberapa pasien, dosis 100 µg sudah mampu menunjukkan reaksi. Dosis yang berbeda dengan kisaran 1,25 hingga 2,5 mg kacang tanah baru memicu terjadinya alergi (Taylor *et al.* 2002). Penelitian yang dilakukan Flinterman *et al.* (2006) menggunakan kacang tanah oven menunjukkan bahwa reaksi alergi ringan pada orang dewasa terjadi pada dosis 0,1 mg protein. Penelitian dengan menggunakan *double-blind placebo-controlled food challenge* (DBPCFC) menggunakan 22 anak-anak sensitif kacang tanah menunjukkan reaksi alergi ketika diberi dosis 100 mg hingga 3.000 mg.

Secara spesifik, dosis protein Ara h1, Ara h2, Ara h3, dan Ara h6 minimum yang dapat menimbulkan alergi berkisar antara 10–3.000 mg berdasarkan IgE (*Immunoglobulin E*) binding menggunakan teknik *immunoblotting* (Koppelman *et al.* 2005, Peeters *et al.* 2007). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa konsen-

trasi Ara h2 dan Ara h6 sebesar 0,1 µg/ml mampu menunjukkan reaksi positif pada pengujian menggunakan metode *skin prick test* (SPT). Konsentrasi Ara h1 yang lebih tinggi yaitu mulai dari 10 µg/ml diperlukan untuk menimbulkan reaksi positif, sedangkan konsentrasi Ara h3 100 µg/ml diperlukan untuk menunjukkan reaksi positif pada pasien dewasa (Peeters *et al.* 2007).

GEJALA ALERGI DISEBABKAN OLEH PROTEIN Ara h KACANG TANAH

Salah satu respons karena alergi makanan adalah terjadinya reaksi kekebalan tubuh (imunitas). Hal ini dipicu oleh konsumsi sumber alergen, terutama berupa protein, yang dicirikan dengan terbentuknya antibodi IgE spesifik alergen tertentu (van Hangel 2007). Menurut Sampson (2002), gejala yang timbul akibat mengkonsumsi protein alergen antara lain adalah:

- a. Kulit: merah dan gatal, rasa hangat, berair,
- b. Organ pencernaan: gatal pada mulut, bibir menebal, mual, sakit pada abdomen, muntah dan diare,
- c. Organ pernafasan: hidung berair, bersin, organ pernafasan terasa menyempit, pembengkakan pada laring, sulit bernafas mengakibatkan nafas berbunyi,
- d. Organ jantung: penurunan tekanan darah tiba-tiba, pusing hingga pingsan, gerakan dan denyut nadi yang tidak teratur.

Gejala tunggal atau kombinasi beberapa organ dapat terjadi pada gejala alergi, seperti kombinasi organ pernafasan dan organ jantung, sehingga dapat membahayakan jiwa pasien. Menurut Furlong *et al.* (2001), keparahan gejala dapat dikelompokkan ke dalam tiga kelas:

- a. Ringan: menyerang kulit atau organ pencernaan baik tunggal maupun kombinasi dan kombinasi dari gejala ringan.
- b. Sedang: penyempitan pernafasan, kombinasi gejala dari dua organ.
- c. Berat: penyempitan pernafasan disertai muntah atau diare, kombinasi gejala dari tiga atau lebih organ, dan penurunan tekanan darah secara mendadak.

Peeters *et al.* (2007) mengungkapkan bahwa pengenalan secara spesifik terhadap suatu alergen memegang peranan penting terjadinya reaksi alergi secara klinis. Tingkat keparahan

alergi tergantung dari kemampuan IgE untuk mengenali lebih dari satu alergen. Lewis *et al.* (2005) menunjukkan bahwa kemampuan IgE berinteraksi dengan ragam alergen, Ara h1, Ara h2 dan Ara h3 sangat menentukan keparahan gejala. Semakin banyak jumlah epitope Ara h1, Ara h2 dan Ara h3 yang mengikat IgE pasien maka semakin parah gejala yang ditimbulkan (Shreffler *et al.* 2004, 2005).

KARAKTERISTIK PROTEIN ALERGEN KACANG TANAH

Protein alergen kacang tanah termasuk dalam famili vicilin, conglutin, glycinin, dan profilin yang mempunyai aktivitas biologi sebagai *seed storage protein* (Tabel 1) (van Bostel *et al.* 2006, 2008; Koppelman *et al.* 2001, 2003; Krause *et al.* 2009; Wen *et al.* 2007).

Alergen Ara h1

Ara h1 (conarachin) merupakan glikoprotein dengan perkiraan berat molekul 63,5 kDa setelah divisualisasi menggunakan *sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) dan titik isoelektrik 4,5 (Burks *et al.* 1991). Ara h1 termasuk dalam superfamili cupin dan berdasarkan pada analisis sekuen DNA, protein ini tergolong dalam 7S globulin

atau famili vicilin, yang termasuk dalam famili *seed storage protein* (Barre *et al.* 2005b, Mills *et al.* 2002, Shin *et al.* 1998). Ara h1 terdiri dari campuran heterogen *N*-glycan, termasuk $\text{Man}_{5-6}\text{GlcNAc}_2$ dan $\text{Man}_{3-4}\text{XylGlcNAc}_2$ (van Ree *et al.* 2000).

Pada pengujian dengan menggunakan IgE pasien, Ara h1 dikenal oleh >90% serum IgE dan hal ini membuktikan bahwa protein ini merupakan salah satu alergen utama pada kacang tanah (Burks *et al.* 1991; Scurlock dan Burks 2004). Setidaknya terdapat 23 IgE epitop linier yang telah dipetakan menggunakan IgE pasien yang sensitif terhadap kacang tanah (Burks *et al.* 1997). Epitop-epitop tersebut terdistribusi merata pada sekuen linier protein kacang tanah. Semua epitop terdiri dari 6–10 asam amino dan peptida 1, 3, 4, dan 17 mengandung sisi pengenalan IgE yang dominan (Burks *et al.* 1997).

Ara h1 memiliki struktur homotrimer pada konsentrasi yang rendah (Shin *et al.* 1998, Maleki *et al.* 2000b). Struktur ini berperan penting pada proses terjadinya alergi. Pembentukan dan kestabilan struktur trimer tersebut terutama disebabkan oleh interaksi hidrofobik (Maleki *et al.* 2000b). Shin *et al.* (1998) dan Burks *et al.* (1997) menemukan bahwa substitusi sebuah asam amino dalam satu epitop memiliki efek

Tabel 1. Karakteristik protein alergen kacang tanah.

Alergen	Berat molekul (kDa)	Titik isoelektrik (pI)	Famili protein
Ara h1	63,5–65 (monomer)		
	600 (oligomer)	4,5	Vicilin
Ara h2	16 dan 18 (isoform)	5,2	Conglutin
Ara h3	57 (klon)		
	400 (oligomer)	5,5	Glycinin
Ara h4	35,9 (klon)	5,5	Glycinin
Ara h5	14 (klon)	4,6	Profilin
Ara h6	14,5 (klon)		
	15 (klon)	5,2	
	5–6	Conglutin	
Ara h7	15,8 (klon)	5,6	Conglutin
Ara h8	16,9 (klon)	5,03	–
Ara h9	9,8	9,0	–
Ara h10	16	–	–
Ara h11	14	–	–
Ara h12	8 (tereduksi)		
	12 (tidak tereduksi)	–	–
Ara h13	8 (tereduksi)		
	11 (tidak tereduksi)	–	–

Klon merupakan hasil dari rekombinan. Ara h9 merupakan lipid transfer protein (LTP), Ara h10 dan Ara h11 adalah oleosin, Ara h12 dan Ara h13 adalah defensin.

Sumber: van Bostel *et al.* 2006, 2008; Koppelman *et al.* 2001, 2003; Krause *et al.* 2009; Wen *et al.* 2007, www.allergen.org (diakses Oktober 2012).

nyata pada kemampuan untuk berinteraksi dengan IgE. Asam-asam amino yang terletak di sekitar pusat epitop berperan paling penting dalam proses interaksi dengan IgE. Sebagai contoh adalah ketika alanin pada epitop 1 yang terletak pada posisi 28–30 dan 32 disubstitusi dengan asam amino lain, IgE pasien tidak mengenali peptida ini. Hal ini mengindikasikan bahwa perubahan atau substitusi susunan asam amino pada daerah pengenalan IgE menyebabkan hilangnya kemampuan protein yang bersangkutan untuk menyebabkan alergi.

Struktur tersier Ara h1 sangat kompak sehingga apabila berada di lingkungan yang mengandung enzim pencernaan (protease) akan menyulitkan kerja enzim memutus ikatan protein, dan hal ini menyebabkan denaturasi protein tidak terjadi (Shin *et al.* 1998). Formasi gabungan struktur trimer dan struktur yang lebih kompleks (oligomer) mungkin melindungi molekul ini dari protease (Shin *et al.* 1998). Ketika berada pada pH masam seperti di dalam lambung, struktur oligomer Ara h1 masih stabil untuk berikatan dengan IgE, bahkan masih stabil pada pH 2. Pada percobaan dengan menggunakan *trypsin*, *chymotrypsin* atau *pepsin*, ditemukan fragmen besar Ara h1 hasil proteolisis yang mengandung epitop yang dikenali IgE. Hal ini membuktikan bahwa Ara h1 tahan terhadap enzim pencernaan sehingga berkontribusi menimbulkan alergi (Maleki *et al.* 2000b).

Alergen Ara h2

Ara h2 adalah salah satu glikoprotein dengan perkiraan berat molekul 17 kDa dan titik isoelektrik 5,2 (Burks *et al.* 1992) serta terdiri dari 545 asam amino (Burks *et al.* 1995, de Jong *et al.* 1998). Ara h2 termasuk salah satu anggota superfamili 2S albumin (Barre *et al.* 2005a). 2S albumin juga terdapat pada leguminosae yang lain seperti kedelai (Shibasaki *et al.* 1980), *nuts* seperti mente (Teuber *et al.* 2002) dan Brazil *nut* (Ampe *et al.* 1986), dan biji yang mengandung minyak seperti biji bunga matahari (Kelly dan Hefle 2000) dan biji wijen (Tai *et al.* 1999). Pemodelan tiga dimensi menunjukkan bahwa Ara h2 tersusun dari ikatan disulfid yang membentuk struktur tiga dimensi membengkok (Barre *et al.* 2005a). Model struktur ini dipunyai oleh anggota superfamili 2S albumin.

Mondoulet *et al.* (2005) mengungkapkan bahwa Ara h2 memiliki isoform dengan perkiraan berat molekul 16 dan 18 kDa pada SDS-PAGE. Kedua isoform ini mampu dikenali oleh

>70% serum IgE (de Jong *et al.* 1998). Bukti lain menunjukkan bahwa Ara h2 dikenali oleh >85% IgE (dari 40 pasien) (Kleber-Janke *et al.* 1999) dan >90% IgE dari pasien sensitif kacang tanah (Shin *et al.* 1998, Stanley *et al.* 1997). Oleh karena itu, isoform Ara h2 dimasukkan dalam salah satu alergen utama kacang tanah (Burks *et al.* 1992, de Jong *et al.* 1998).

Protein yang termasuk dalam 2S dan 11S globulin memiliki sifat stabil pada suhu tinggi. Globulin-globulin ini menjadi tidak membengkok pada suhu di atas 95 °C berdasarkan hasil dari *differential scanning calorimetry* (DSC) (Mills *et al.* 2002). Pengujian dengan menggunakan kacang tanah oven varietas Sun Oleic dan NC9 menunjukkan adanya peningkatan aktivitas ikatan IgE sebesar 90 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kacang tanah mentah (Maleki *et al.* 2000a). Modifikasi kovalen selama pengovenan mungkin meningkatkan sisi pengenalan IgE, oleh karena itu meningkatkan alergenitas, termasuk sifat toleran panas dan toleran degradasi oleh enzim pencernaan (Maleki *et al.* 2000a). Tidak seperti halnya proses pengovenan, perebusan kacang tanah menyebabkan menurunnya kemampuan protein berikatan dengan IgE sebesar 1,5–2 kali lebih rendah dibandingkan dengan kacang tanah mentah (Mondoulet *et al.* 2005). Kemampuan menyebabkan alergi yang rendah dimungkinkan karena konsentrasi protein setelah perebusan menjadi 2 kali lebih rendah dibandingkan dengan kacang tanah mentah. Hal ini diperkuat dengan bukti bahwa protein dengan berat molekul rendah ditemukan pada air rebusan (Mondoulet *et al.* 2005).

Alergen Ara h3

Gen yang mengekspresikan Ara h3 telah berhasil diklon dan protein yang dihasilkan divisualisasi dengan perkiraan berat molekul 60 kDa. Berat molekul ini mampu berikatan dengan IgE (Rabjohn *et al.* 1999). Penelitian dengan menggunakan rekombinan Ara h3 menunjukkan bahwa terdapat dua rekombinan yang masing-masing memiliki berat molekul 36 kDa dan 60 kDa (Rabjohn *et al.* 1999). Pemurnian Ara h3 dari kacang tanah menghasilkan struktur Ara h3 kompleks, yang membentuk protein hetero-multimer dengan berat molekul sekitar 400 kDa (Koppelman *et al.* 2003). Pemisahan Ara h3 dengan teknik *anion exchange chromatography* menghasilkan beberapa peptida dengan berat molekul berkisar antara 14–45 kDa, di mana prediksi berat molekul dari

produk gen adalah sekitar 60 kDa (Rabjohn *et al.* 1999). Hal ini mengindikasikan bahwa Ara h3 terbentuk melalui proses proteolitik dan menghasilkan pita protein dengan berat molekul 14, 25, 42, dan 45 kDa.

Alergen Ara h4

Eksresi gen Ara h4 menghasilkan perkiraan peptida sebanyak 315 asam amino (Kleber-Janke *et al.* 1999). Perkiraan berat molekul Ara h4 adalah 35,9 kDa dengan titik isoelektrik 5,5. Protein ini memiliki 70% kesamaan sekuen asam amino dan 56% identik dengan protein famili glycinin. Glycinin umumnya disintesis pada proses embriogenesis (Nielsen *et al.* 1989). Ara h4 hasil pemurnian dikenali oleh 53% serum IgE pasien dari total 40 serum pasien (Kleber-Janke *et al.* 1999).

Alergen Ara h5

Gen yang mengekspresikan Ara h5 memiliki panjang 743 bp dengan 396 nukleotida merupakan *coding region*. Hasil ekspresi gen ini berupa protein yang terdiri dari 131 asam amino dengan perkiraan berat molekul 14 kDa dan titik isoelektrik 4,6 (Kleber-Janke *et al.* 1999). Protein ini memiliki homologi dengan profilin pada tanaman. Homologi sekuen protein masing-masing memiliki kesamaan 76% dan 83% dengan profilin *Phleum pratense* (sejenis rumput) dan profilin kedelai (Wen *et al.* 2007). Immunoblotting dengan 40 IgE pasien menunjukkan bahwa 13% serum mengenali Ara h5 (Kleber-Janke *et al.* 1999).

Alergen Ara h6

Gen Ara h6 memiliki panjang 627 bp dengan 375 bp merupakan *coding region* yang mengekspresikan peptida dengan perkiraan berat molekul 14,5 kDa dan titik isoelektrik 5,2. Peptida ini memiliki kesamaan dengan protein famili conglutin yang termasuk dalam superfamili 2S *storage protein*. Protein ini memiliki 68% kesamaan sekuen asam amino dan 39% identik dengan prekursor atau conglutin δ -protein dari lupin (*Lupinus angustifolius*). Ara h6 dikenali oleh 38% IgE dari 40 pasien (Kleber-Janke *et al.* 1999).

Ara h6 merupakan isoform Ara h2 yang terpotong (*truncated*). Alergen ini kehilangan satu epitop pengikat IgE dibandingkan dengan Ara h2 sehingga dianggap kurang menimbulkan reaksi alergi. Akan tetapi, Ara h6 memiliki aktivitas menginduksi reaksi SPT tertinggi (Flinterman *et al.* 2007). Hal ini mungkin dapat dijelaskan

kan dengan struktur tiga dimensi yang menunjukkan adanya paparan epitop pengikat IgE yang lebih terekspos (Flinterman *et al.* 2007) dibandingkan dengan prediksi sekuen asam aminonya (Peeters *et al.* 2007).

Alergen Ara h7, Ara h8, Ara h9, Ara h10, Ara h11, Ara h12, dan Ara h13

Klon Ara h7 memiliki panjang 637 bp dengan perkiraan berat molekul protein 15,8 kDa dan titik isoelektrik 5,6 (Kleber-Janke *et al.* 1999). Klon Ara h7 memiliki kesamaan dengan sekuen protein dari famili conglutin yang merupakan superfamili 2S *storage protein*. Ara h6 dan Ara h7 memiliki kesamaan sekuen dengan protein Ara h2. Ara h7 memiliki 72% kesamaan sekuen asam amino dan 39% identik dengan prekursor atau conglutin δ -protein dari lupin (*Lupinus angustifolius*) (Kleber-Janke *et al.* 1999). Ara h7 dikenali 34% IgE dari 40 pasien (Kleber-Janke *et al.* 1999). Dua isoform Ara h7 kacang tanah (Ara h7,0201 dan Ara h7,0202) ditemukan dalam jumlah sedikit dan protein-protein ini memiliki fungsi biologi sebagai amilase/*trypsin inhibitor* (Schmidt *et al.* 2010).

Ara h8 memiliki perkiraan berat molekul 16,9 kDa dan prediksi titik isoelektrik 5,03. Protein ini peka terhadap pemanasan tinggi dan tidak tahan terhadap pepsin (Mittag *et al.* 2004). Ara h8 homolog dengan Bet v1 (polen pohon *birch* yang menyebabkan alergi) (Mittag *et al.* 2004). Klon Ara h9 (perkiraan berat molekul 9,8 kDa) merupakan *lipid transfer protein* (LTP) yang relatif stabil pada perlakuan menggunakan protease dan panas tinggi (Krause *et al.* 2009). Ara h 10 (perkiraan berat molekul 16 kDa, oleosin), Ara h11 (perkiraan berat molekul 14 kDa, oleosin), Ara h12 (perkiraan berat molekul 12 kDa), dan Ara h13 (perkiraan berat molekul 11 kDa) belum diteliti secara mendalam (www.allergen.org diakses Oktober 2012).

UPAYA MEMINIMALKAN PENYEBAB ALERGI PROTEIN KACANG TANAH

Beberapa pendekatan telah dilakukan untuk mengurangi efek alergi pada biji kacang tanah, yaitu pengolahan, rekayasa genetika, pemuliaan selektif dan perlakuan enzimatis. Pengolahan kacang tanah dapat meningkatkan atau menurunkan alergenitas. Pengolahan dengan cara perebusan dan penggorengan menyebabkan menurunnya kemampuan protein berikatan dengan IgE (Beyer *et al.* 2001, Mondoulet *et al.* 2005). Beberapa penelitian rekayasa genetika mampu “menghilangkan” alergen (Dodo *et al.*

2008, 2011). Kacang tanah dengan kandungan alergen rendah dapat digunakan untuk pemuliaan selektif. Beberapa perlakuan enzimatis terbukti mampu menurunkan alergenitas kacang tanah (Yu *et al.* 2011). Keempat pendekatan ini diulas mendalam sebagai berikut.

Pengaruh Teknik Pengolahan pada Protein Alergen

Meningkatnya jumlah penderita alergi makanan akhir-akhir ini disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain meningkatnya konsumsi aneka macam makanan, berkembangnya teknologi pembuatan makanan baru dan beragamnya teknik pengolahan makanan. Berhubungan dengan teknologi pengolahan makanan, jumlah konsumsi kacang tanah di Cina dan Indonesia lebih banyak dari pada di AS, akan tetapi jumlah penderita alergi di Cina lebih sedikit daripada di AS (Hill *et al.* 1997). Hal ini mungkin berhubungan dengan pola konsumsi kacang tanah rebus dan kacang tanah goreng yang lebih banyak di Cina dan Asia (Beyer *et al.* 2001). Pengolahan makanan yang berbeda seperti penggorengan (120 °C) dan perebusan (100 °C) dapat mengurangi kemampuan Ara h1, Ara h2 dan Ara h3 berikatan dengan IgE dibandingkan dengan kacang tanah oven. Visualisasi pita Ara h1 monomer (63 kDa) pada SDS-PAGE menjadi berkurang pada kacang tanah goreng dibandingkan dengan kacang tanah oven. Ara h1 trimer (180 kDa) tidak terdeteksi pada kacang tanah goreng dan kacang tanah rebus (Beyer *et al.* 2001).

Perlakuan pemanasan mengganggu keseimbangan ikatan intramolekul dan mengubah organisasi struktur protein pada hampir semua protein. Kelompok hidrofobik yang berorientasi ke dalam berubah menjadi ke luar yang menyebabkan lebih mudah berinteraksi dengan molekul air. Sebagian besar struktur sekunder dan tersier protein menjadi terdenaturasi pada suhu di atas 80 °C yang menyebabkan protein menjadi tidak membengkok (Davis dan Williams 1998). Peptida dengan berat molekul rendah yang dikenali oleh IgE terdeteksi pada air bekas perebusan kacang tanah (Mondoulet *et al.* 2005). Akibat adanya perpindahan alergen dengan berat molekul rendah ke dalam air selama perebusan, maka protein pada air rebusan tersebut dapat divisualisasi pada SDS-PAGE (Mondoulet *et al.* 2005).

Pengaruh Rekayasa Genetika pada Protein Alergen

Tanaman memiliki karakter spesifik yang dapat dimanipulasi menggunakan rekayasa genetika. Teknik ini meningkatkan presisi transfer gen dan mengurangi waktu untuk menghasilkan tanaman baru dengan karakter khusus dibandingkan dengan seleksi pemuliaan konvensional (Dodo *et al.* 2005). Teknik untuk menghambat atau menghilangkan ekspresi gen alergen dapat digunakan untuk menghasilkan kacang tanah rendah alergen (Dodo *et al.* 2005, 2008, 2011). Kacang tanah dengan kandungan Ara h2 yang rendah sudah dapat dihasilkan dengan teknik RNAi (RNA *interference*). Ara h2 pada tanaman transgenik yang dihasilkan berkurang antara 21,7% hingga 25,1% (setara dengan 2,9% hingga 6,2% total Ara h2 dalam biji) dibandingkan dengan kontrolnya (total Ara h2 sebesar 27,7%) setelah dideteksi menggunakan *double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay* (DAS ELISA) (Dodo *et al.* 2008). Hal yang menarik adalah pada tanaman transgenik yang hanya mengandung Ara h2 antara 2,9–6,2% tersebut tidak dikenali oleh antibodi monoklonal spesifik Ara h2. Akan tetapi, penelitian dengan IgE pasien menunjukkan adanya ikatan yang lemah terhadap Ara h2 dibandingkan dengan kontrol (Dodo *et al.* 2008). Hal ini mengisyaratkan masih terdapat resiko terjadinya alergi pada pasien.

Pengaruh Pemuliaan Konvensional Selektif pada Protein Alergen

Kacang tanah yang secara alami memiliki kandungan alergen rendah dapat digunakan pada kegiatan pemuliaan konvensional untuk menghasilkan tanaman rendah alergen. Skrining plasma nutfah kacang tanah termasuk tipe liar (*wild type*) telah dilakukan untuk mendapatkan tetua dalam persilangan. Kang *et al.* (2007) menyeleksi 208 genotipe termasuk hasil persilangan, aksesi, kultivar dan donor genom *Arachis duraensis* dan *A. ipaensis*. Dua aksesi, 20 hasil persilangan dan 2 kultivar kacang tanah mengandung protein dengan perkiraan berat molekul 36 kDa (isoform Ara h3) yang rendah atau pita protein ini tidak ada. Belum lama ini Yusnawan *et al.* (2012) menyeleksi sebanyak 157 genotipe kacang tanah dari Indonesia dan Australia dengan menggunakan DAS ELISA dan SDS-PAGE. Dua koleksi kacang tanah Indonesia yaitu lokal Jepara dan koleksi plasma nutfah MLG 7721 asal Tegal secara

konsisten memiliki kandungan Ara h1, Ara h2, Ara h3, dan Ara h6 yang rendah. Hal ini memberikan peluang untuk menghasilkan kacang tanah dengan kandungan alergen rendah dengan menggunakan kedua tetua tersebut.

Pengaruh Perlakuan Enzimatis terhadap Protein Alergen

Perlakuan dengan menggunakan enzim telah dilakukan untuk mengeliminasi atau mengurangi kadar alergen pada beberapa bahan makanan. Padi dengan kadar alergen rendah telah dihasilkan dengan proses proteolisis menggunakan protease yang mampu menurunkan separuh kadar glutelin, salah satu protein alergen pada biji padi (Watanabe 1993). Meskipun beberapa perlakuan dengan enzim telah terbukti mampu menurunkan kadar alergen, beberapa penelitian membuktikan bahwa banyak protein alergen yang tahan terhadap perlakuan enzim dan suhu tinggi. Sebagai contoh adalah Ara h1 oligomer lebih tahan terhadap enzim pencernaan dan memiliki tingkat kelarutan rendah dibandingkan dengan monomer Ara h1 (Maleki *et al.* 2000b). Struktur oligomer yang mengandung sisi pengenalan IgE mampu melalui usus sehingga dapat menimbulkan reaksi alergi (Maleki *et al.* 2000b). Salah satu fungsi Ara h2 adalah sebagai *trypsin inhibitor* dan setelah perlakuan pengovenan, fungsi ini menjadi meningkat (Maleki *et al.* 2003). Akan tetapi, perlakuan dengan protease tertentu seperti *chymotrypsin* dan *trypsin* mampu mengurangi kadar Ara h1 dan Ara h2 masing-masing sebesar 100% dan 98% pada kacang tanah oven (Yu *et al.* 2011).

KESIMPULAN

Alergi yang disebabkan oleh protein kacang tanah merupakan salah satu isu global keamanan pangan kacang tanah di samping cemaran aflatoxin dikarenakan mampu mengakibatkan reaksi alergi fatal seperti anafilaksis bahkan kematian. Perkembangan teknologi pembuatan makanan baru dan beragamnya teknik pengolahan makanan diduga berperan dalam meningkatnya jumlah penderita alergi. Usaha untuk menurunkan kandungan alergen kacang tanah telah dilakukan dengan empat pendekatan, yaitu pengolahan bahan makanan, rekayasa genetika, pemuliaan konvensional selektif dan perlakuan menggunakan enzim. Cara-cara ini dapat memberikan hasil yang lebih efektif apabila dikombinasikan, sebagai contoh

adalah kacang tanah rendah alergen hasil rekayasa genetika atau pemuliaan konvensional diproses lebih lanjut dengan pengolahan atau perlakuan enzim. Indonesia sebagai salah satu negara penghasil kacang tanah memiliki dua genotipe yang rendah alergen (lokal Jepara dan MLG 7721). Peluang ini memberikan harapan untuk menghasilkan kacang tanah rendah alergen sebagaiantisipasi perdagangan kacang tanah tingkat dunia yang lebih memilih kacang tanah dengan risiko keamanan pangan rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ampe, C., J. Van Damme, L.A.B. De Castro, M.J.A.M. Sampaio, M. Montagu, and J. Vandekerckhove. 1986. The amino-acid sequence of the 2S sulphur-rich proteins from seeds of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). *European J. Biochem.* 159:601–604.
- Anandan, C. and A. Sheikh. 2005. European developments in labelling allergenic foods: More still needs to be done. *BMJ.* 331:1155–1156.
- Barre, A., J. Borges, R. Culierrier, and P. Rouge. 2005a. Homology modelling of the major peanut allergen Ara h 2 and surface mapping of IgE-binding epitopes. *Immunol. Letters.* 100:153–158.
- Barre, A., J. Borges and P. Rouge. 2005b. Molecular modelling of the major peanut allergen Ara h 1 and other homotrimeric allergens of the cupin superfamily: a structural basis for their IgE-binding cross-reactivity. *Biochimie* 87:499–506.
- Beyer, K., E. Morrow, X. Li, L. Bardina, A.G. Bannon, A.W. Burks, and H.A. Sampson. 2001. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107:1077–1081.
- Bock, S.A., A. Munoz-Furlong and H.A. Sampson. 2007. Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001–2006. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119:1016–1018.
- Burks, A.W. S. Davis, C. Gael, J.S. Stanley, M.H. Ricki, and A.B. Gary. 1997. Mapping and mutational analysis of the IgE-binding epitopes on Ara h 1, a legume vicilin protein and a major allergen in peanut hypersensitivity. *European J. Biochem.* 245:334–339.
- Burks, A.W., G. Cockrell, J.S. Stanley, R.M. Helm, and G.A. Bannon. 1995. Recombinant peanut allergen Ara h I expression and IgE binding in patients with peanut hypersensitivity. *J. Clin. Inves.* 96:1715–1721.
- Burks, A.W., L.W. Williams, C. Connaughton, G. Cockrell, T.J. O'Brien, and R.M. Helm. 1992. Identification and characterization of a second major peanut allergen, Ara h II, with use of the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.* 90:962–969.

- Burks, A.W., L. Williams, R.M. Helm, C. Connaughton, G. Cockrell, and T.J. O'Brien. 1991. Identification of a major peanut allergen, Ara h I, in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenges. *J. Allergy Clin. Immunol.* 88:172–179.
- Cleveland, T.E., P.F. Dowd, D. Bhatnagar, and P.J. Cotty. 2003. Pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in crops. *Pest Management Sci.*, 59:629–642.
- Davis, P.J. and S.C. Williams. 1998. Protein modification by thermal processing. *Allergy*, 53:102–105.
- De Jong, E.C., M.V. Zijverden, S. Spanhaak, S.J. Koppelman, H. Pellegrum, and A.H. Penninks. 1998. Identification and partial characterization of multiple major allergens in peanut proteins. *Clin. Exp. Allergy*. 28:743–751.
- Dodo, H.W., C.J. Arntzen, O.M. Viquez, and K.N.D. Konan. 2011. Down-Regulation and Silencing of Allergen Genes in Transgenic Peanut Seeds. United States patent application 12/770435.
- Dodo, H.W., K. Konan and O. Viquez. 2005. A genetic engineering strategy to eliminate peanut allergy. *Cur. Allergy Asthma Reports*. 5:67–73.
- Dodo, H.W., K.N. Konan, F.C. Chen, M. Egnin, and O.M. Viquez. 2008. Alleviating peanut allergy using genetic engineering: the silencing of the immunodominant allergen Ara h 2 leads to its significant reduction and a decrease in peanut allergenicity. *Plant Biotech. J.* 6:135–145.
- Emmett, S.E., F.J. Angus, J.S. Fry, and P.N. Lee. 1999. Perceived prevalence of peanut allergy in Great Britain and its association with other atopic conditions and with peanut allergy in other household members. *Allergy*. 54:380–385.
- Flinterman, A.E., E. Van Hoffen, C.F.D.H. Jager, S. Koppelman, S.G. Pasmans, M. Hoekstra, C.A. Bruijnzeel-Koomen, A.C. Knulst, and E.F. Knol. 2007. Children with peanut allergy recognize predominantly Ara h2 and Ara h6, which remains stable over time. *Clin. Exp. Allergy*. 37:221–228.
- Flinterman, A.E., S.G. Pasmans, M.O. Hoekstra, Y. Meijer, E. Van Hoffen, E.F. Knol, S.L. Hefle, C.A. Bruijnzeel-Koomen, and A.C. Knulst. 2006. Determination of no-observed-adverse-effect levels and eliciting doses in a representative group of peanut-sensitized children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 117:448–454.
- Frank, L., A.Marian, M. Visser, E. Weinberg, and P.C. Potter. 1999. Exposure to peanuts in utero and in infancy and the development of sensitization to peanut allergens in young children. *Pediatric Allergy Immunol.* 10:27–32.
- FSANZ. 2004. Food Labelling Issues: Quantitative Consumer Survey on Allergen Labelling: Benchmark Survey 2003.
- Furlong, T.J., J. Desimone and S.H. Sicherer. 2001. Peanut and tree nut allergic reactions in restaurants and other food establishments. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108:867–870.
- Grundy, J., S. Matthews, B. Bateman, T. Dean, and S.H. Arshad. 2002. Rising prevalence of allergy to peanut in children: Data from 2 sequential cohorts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110:784–789.
- Hill, D.J., C.S. Hosking, C.Y. Zhie, R. Leung, K. Baratwidjaja, Y. Ilkura, N. Iyngkaran, A. Gonzalez-Andaya, L.B. Wah, and K.H. Hsieh. 1997. The frequency of food allergy in Australia and Asia. *Env. Toxicol. Pharmacol.* 4:101–110.
- Horn, B.W., R.L. Greene, and J.W. Dorner. 2000. Inhibition of aflatoxin B1 production by *Aspergillus parasiticus* using nonaflatoxigenic strains: role of vegetative compatibility. *Biol. Control*. 17. 147–154.
- Hourihane, J.O.B., R. Aiken, R. Briggs, L.A. Gudgeon, K.E.C. Grimshaw, A. Dunngalvin, and S.R. Roberts. 2007. The impact of government advice to pregnant mothers regarding peanut avoidance on the prevalence of peanut allergy in United Kingdom children at school entry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119:1197–1202.
- Kang, I. M. Gallo and B.L. Tillman. 2007. Distribution of allergen composition in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) and wild progenitor (*Arachis*) species. *Crop Sci.* 47:997–1003.
- Kelly, J.D. and S.L. Hefle. 2000. 2S methionine-rich protein (SSA) from sunflower seed is an IgE-binding protein. *Allergy*. 55:556–559.
- Kleber-Janke, T., R. Cramer, U. Appenzeller, M. Schlaak, and M.W. Becker. 1999. Selective cloning of peanut allergens, including profilin and 2S albumins, by phage display technology. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 119:265.
- Klich, M.A. 2007. *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. *Mol. Plant Pathol.* 8:713–722.
- Koppelman, S.J. C.A.F.M. Bruijnzeel-Koomen, M. Hiessing, and H.H.J. De Jongh. 1999. Heat-induced conformational changes of Ara h 1, a major peanut allergen, do not affect its allergenic properties. *J. Biol. Chem.* 274:4770–4777.
- Koppelman, S.J., E.F. Knol, R.A.A. Vlooswijk, M. Wensing, A.C. Knulst, S.L. Hefle, H. Gruppen, and S. Piersma. 2003. Peanut allergen Ara h 3: Isolation from peanuts and biochemical characterization. *Allergy*. 58:1144–1151.
- Koppelman, S.J., G.A.H.D. Jong, M. Laaper-Ertmann, K.A.B.M. Peeters, A.C. Knulst, S.L. Hefle, and E.F. Knol. 2005. Purification and immunoglobulin E-binding properties of peanut allergen Ara h 6: evidence for cross-reactivity with Ara h 2. *Clin. Exp. Allergy*. 35:490–497.
- Koppelman, S.J., R.A.A. Vlooswijk, L.M.J. Knippels, M. Hiessing, E.F. Knol, F.C. Van Reijssen, and C.A.F.M. Bruijnzeel-Koomen. 2001. Quantification of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2 in the peanut varieties Runner, Spanish, Virginia, and

- Valencia, bred in different parts of the world. *Allergy*. 56:132–137.
- Krause, S., G. Reese, S. Randow, D. Zennaro, D. Quarantino, P. Palazzo, M.A. Ciardiello, A. Petersen, W. Becker, and A. Mari. 2009. Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *The J. Allergy Clin. Immunol.* 124:771–778.e5.
- Lewis, S.A., K.E.C. Grimshaw, J.O. Warner., and J.O.B. Hourihane. 2005. The promiscuity of immunoglobulin E binding to peanut allergens, as determined by Western blotting, correlates with the severity of clinical symptoms. *Clin. Exp. Allergy*. 35:767–773.
- Magan, N. and D. Aldred. 2007. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *Internat. J. Food Microbiol.*, 119, 131–139.
- Maleki, S.J., O. Viquez, T. Jacks, H. Dodo, E.T. Champagne, S. Chung, and S.J. Landry. 2003. The major peanut allergen, Ara h 2, functions as a trypsin inhibitor, and roasting enhances this function. *J. Allergy Clin. Immunol.* 112:190–195.
- Maleki, S.J., R.A. Kopper, D.S. Shin, C. Park, C.M. Compadre, H. Sampson, A.W. Burks, and G.A. Bannon. 2000b. Structure of the major peanut allergen Ara h 1 may protect IgE-binding epitopes from degradation. *The J. Immunol.* 164:5844–5849.
- Maleki, S.J., S. Chung, E.T. Champagne, and J. Raufman. 2000a. The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 106:763–768.
- Mills, E.N., J. Jenkins, N. Marigheto, P.S. Belton, A.P. Gunning, and V.J. Morris. 2002. Allergens of the cupin superfamily. *Biochem. Soc. Trans.* 30:925–929.
- Mittag, D., J. Akkerdaas, B.K. Ballmer-Weber, L. Vogel, M. Wensing, W. Becker, S.J. Koppelman, A.C. Knulst, A. Helbling, S.L. Hefle, R. Van Ree, and S. Vieths. 2004. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 114:1410–1417.
- Mondoulet, L., E. Paty, M.F. Drumare, S. Ah-Leung, P. Scheinmann, R.M. Willemont, J.M. Wal, and H. Bernard. 2005. Influence of Thermal Processing on the Allergenicity of Peanut Proteins. *J. Agric. Food Chem.* 53:4547–4553.
- Nielsen, N.C. C.D. Dickison, T.J. Cho, V.H. Thanh, B.J. Scallon, R.L. Fischer, T.L. Sims, G.N. Drew, and R.B. Goldberg. 1989. Characterization of the glycinin gene family in soybean. *Plant Cell*. 1:313–328.
- Peeters, K.A.B.M, S.J. Koppelman, E.V. Hoffen, C.W.H.V.D. Tas, C.F.D.H. Jager, A.H. Penninks, S.L. Hefle, C.A.F.M. Bruijnzeel-Koomen, E.F. Knol, and A.C. Knulst. 2007. Does skin prick test reactivity to purified allergens correlate with clinical severity of peanut allergy? *Clin. Exp. Allergy*. 37:108–115.
- Pumphrey, R.S.H. and M.H. Gowland. 2007. Further fatal allergic reactions to food in the United Kingdom, 1999–2006. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119:1018–1019.
- Rabjohn, P., E.M. Helm, J.S. Stanley, C.M. West, H.A. Sampson, A.W. Burks, and G.A. Bannon. 1999. Molecular cloning and epitope analysis of the peanut allergen Ara h 3. *J. Clin. Inves.* 103:535–542.
- Rachaputi, N., G.C. Wright and S. Krosch. 2002. Management practices to minimise pre-harvest aflatoxin contamination in Australian peanuts. *Aus. J. Exp. Agric.* 42:595–605.
- Sampson, H.A. 2002. Peanut allergy. *The New England J. Med.*, 346, 1294–1299.
- Sampson, H.A. and C.C. McCaskill. 1985. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: evaluation of 113 patients. *The J. Pediatr.* 107:669–675.
- Schmidt, H., S. Krause, C. Gelhaus, A. Petersen, O. Janssen, and W. Becker. 2010. Detection and structural characterization of natural Ara h 7, the third peanut allergen of the 2S albumin family. *J. Proteome Res.* 9:3701–3709.
- Scurlock, A.M. and A.W. Burks. 2004. Peanut allergenicity. *Annals of Allergy, Asthma Immunol.* 93:12–18.
- Shek, L.P. and B.W. Lee. 2006. Food allergy in Asia. *Cur. Opinion in Allergy Clin. Immunol.* 6:197–201.
- Shibasaki, M., S. Suzuki, S. Tajima, H. Nemoto, and T. Kuroume. 1980. Allergenicity of major component proteins of soybean. *Internat. Arch. Allergy Immunol.* 61:441–448.
- Shin, D.S., C.M. Compadre, S.J. Maleki, R.A. Kopper, H. Sampson, S.K. Huang, A.W. Burks, and G.A. Bannon. 1998. Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h1, an abundant and highly allergenic peanut protein. *J. Biol. Chem.* 273:13753–13759.
- Shreffler, W.G., D.A. Lencer, L. Bardina, and H.A. Sampson. 2005. IgE and IgG4 epitope mapping by microarray immunoassay reveals the diversity of immune response to the peanut allergen, Ara h 2. *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:893–899.
- Shreffler, W.G., K. Beyer, T. Chu, A.W. Burks, and H.A. Sampson. 2004. Microarray immunoassay: Association of clinical history, in vitro IgE function, and heterogeneity of allergenic peanut epitopes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 113:776–782.
- Shreffler, W.G., Z. Charlop-powers and S.H. Sicherer. 2006. Lack of association of HLA class II alleles with peanut allergy. *Annals of Allergy, Asthma Immunol.* 96:865–869.
- Sicherer, S.H. and H.A. Sampson. 2007. Peanut allergy: Emerging concepts and approaches for an apparent epidemic. *J. Allergy Clin. Immunol.*

- 120:491–503.
- Sicherer, S.H., A. Munoz-Furlong and H.A. Sampson. 2003. Prevalence of peanut and tree nut allergy in the United States determined by means of a random digit dial telephone survey: A 5-year follow-up study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 112:1203–1207.
- Sicherer, S.H., A.W. Burks and H.A. Sampson. 1998. Clinical features of acute allergic reactions to peanut and tree nuts in children. *Pediatr.* 102, e6.
- Sicherer, S.H., T.J. Furlong, H.H. Maes, R.J. Desnick, H.A. Sampson, and B.D. Gelb. 2000. Genetics of peanut allergy: A twin study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 106:53–56.
- Sinha, P.K. and N.R. Bhagat. 1988. Origin and history. In: Reddy, P.S. (ed.) *Groundnut*. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research.
- Stanley, J.S., N. King, A.W. Burks, S.K. Huang, H. Sampson, G. Cockrell, R.M. Helm, C.M. West, and G.A. Bannon. 1997. Identification and mutational analysis of the immunodominant IgE binding epitopes of the major peanut allergen Ara h 2. *Arc. Biochem. Biophys.* 342:244–253.
- Tai, S.S.K, L.S.H. Wu, E.C.F. Chen, J.T.C. Tzen. 1999. Molecular cloning of 11S globulin and 2S albumin, the two major seed storage proteins in sesame. *J. Agric. Food Chem.* 47:4932–4938.
- Taylor, S.L. and S.L. Hefle. 2006. Food allergen labeling in the USA and Europe. *Cur. Opinion Allergy Clin. Immunol.* 6(3):186–190.
- Taylor, S.L., S.L. Hefle, C. Bindslev-Jensen, S.A. Bock, A.W. Burks, L. Christie, D.J. Hill, A. Host, J.O.B. Hourihane, G. Lack, D.D. Metcalfe, D.A. Moneret-Vautrin, P.A. Vadas, F. Rance, D.J. Skrypec, T.A. Trautman, I.M. Yman, and R.S. Zeiger. 2002. Factors affecting the determination of threshold doses for allergenic foods: How much is too much? *J. Allergy Clin. Immunol.* 109:24–30.
- Teuber, S.S., S.K. Sathe, W.R. Peterson, and K.H. Roux. 2002. Characterization of the soluble allergenic proteins of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.). *J. Agric. Food Chem.* 50:6543–6549.
- Tillman, B.L. and H.T. Stalker. 2009. Peanut. In: Vollmann, J. and I. Rajcan (eds.) *Oil Crops*. Springer New York.
- Vadas, P., Y. Wai, W. Burks and B. Perelman. 2001. Detection of peanut allergens in breast milk of lactating women. *JAMA* 285:1746–1748.
- Van Boxtel, E.L., L.A.M. Van Den Broek, S.J. Koppelman, and H. Gruppen. 2008. Legumin allergens from peanuts and soybeans: Effects of denaturation and aggregation on allergenicity. *Mol. Nutr. Food Res.* 52:674–682.
- Van Boxtel, E.L., M.M.C. Van Beers, S.J. Koppelman, L.A.M. Van Den Broek, and H. Gruppen. 2006. Allergen Ara h 1 occurs in peanuts as a large oligomer rather than as a trimer. *J. Agric. Food Chem.* 54:7180–7186.
- Van Hangel, A. 2007. Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers. *Anal. Bioanal. Chem.* 389:111–118.
- Van Ree, R., M. Cabanes-Macheteau, J. Akkerdaas, J. Milazzo, C. Loutelier-Bourhis, C. Rayon, M. Villalba, S. Koppelman, R. Aalberse, R. Rodriguez, L.C. Faye, and P. Lerouge. 2000. α (1,2)-xylose and α (1,3)-fucose residues have a strong contribution in IgE binding to plant glycoallergens. *J. Biol. Chem.* 275:11451–11458.
- Watanabe, M. 1993. Hypoallergenic rice as a physiologically functional food. *Trends Food Sci. Technol.* 4:125–128.
- Wen, H., W. Borejsza-Wysocki, W., T.R. Decory, and R.A. Durst. 2007. Peanut allergy, peanut allergens, and methods for the detection of peanut contamination in food products. *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety.* 6:47–58.
- Wensing, M., A.H. Penninks, S.L. Hefle, S.J. Koppelman, C.A.F.M. Bruijnzeel-Koomen, and A.C. Knulst. 2002. The distribution of individual threshold doses eliciting allergic reactions in a population with peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110:915–920.
- www.allergen.org. Accessed October 2012.
- Yu, J.W., M. Ahmedna, I. Goktepe, H. Cheng, and S.J. Maleki. 2011. Enzymatic treatment of peanut kernels to reduce allergen levels. *Food Chem.* 127:1014–1022.
- Yu, J.W., R. Kagan, N. Verreault, N. Nicholas, L. Joseph, Y. Pierre, and A. Clarke. 2006. Accidental ingestions in children with peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 118:466–472.
- Yusnawan, E. 2012. Study of Variation in Ara h1 and Ara h3 Expression in Australian and Indonesian Peanut Genotypes, Based on the Antibody-based Phenotyping Assays. Dissertation. The University of New South Wales, Sydney, Australia.
- Yusnawan, E. 2013. Isu global keamanan pangan kacang tanah I: Kontaminasi aflatoksin dan cara pencegahan saat prapanen berdasar bioekologi *Aspergillus flavus*. *Bul. Palawija.* 25:11–17.