

PENGARUH MUTASI GEN *RYR-1* TERHADAP KUALITAS DAGING BABI *LANDRACE*

EFFECTS OF RYR-1 GEN MUTATION ON LANDRACE PORK QUALITY

Geertruida Margareth Sipahelut¹, Muladno² dan Rudy Priyanto³

¹Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana

^{2,3}Fakultas Peternakan, Institute Pertanian Bogor

sipahelutetje@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya mutasi dalam gen *Ryr-1* dan kaitannya dengan kejadian *PSE* (*pale, soft and exudatie*) pada ternak babi yang diternakan secara komersial di Indonesia terhadap kualitas daging babi. Ternak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 ekor babi keturunan *Landrace* jantan dan betina masing-masing 20 ekor menghasilkan daging normal dan 20 ekor menghasilkan daging *PSE*. Variabel kualitas daging yang diukur adalah susut drip, susut masak dan keempukkan serta pengujian DNA. Data kuantitatif diolah dengan menggunakan prosedur Sidik Ragam. Hasil penelitian menunjukkan susut drip daging babi normal sebesar (1.65±0.16) dan *PSE* (2.52±0.17), susut masak daging normal (28.79±2.64) dan *PSE* (35.09±2.38) serta keempukkan daging normal (5.57±0.70) dan *PSE* (7.18±0.70). Ketiga variabel menunjukkan perbedaan yang signifikan dan hasil analisis DNA menunjukkan terjadi mutasi pada gen *Ryr-1*. Kesimpulan daging babi *PSE* mempunyai kualitas yang lebih rendah daripada daging babi normal. Sebagaimana diharapkan, babi yang menghasilkan daging *PSE* mengalami mutasi pada gen *Ryr-1* berdasarkan analisis *PCR-RFLP*.

Kata kunci: Daging *PSE*, gen *Ryr-1*, DNA, kualitas fisik

ABSTRACT

This study was to identify any mutation at *Ryr-1* gene of *Landrace* pigs raised under commercial farms in related to *PSE* pork. Forty animals were selected to produce 20 samples of each normal and *PSE* meat. DNA analysis was conducted for *PSE* pork, and meat quality attributes was measured for each types of meat, were drip loss, cooking loss, and tenderness (*Warner-Bratzler Shear Force*). Quantitatives data were analyzed using analysis of variance procedure. DNA analysis indicated there was any mutation at *Ryr-1* gene for animals those produced *PSE* pork. There were highly significant differences between normal and *PSE* pork for three attributes of meat quality. Drip loss 1.65% ±0.16 vs 2.52%±0.17, cooking loss 28.79% ±2.64 vs 35.09 ± 2.38, and *Warner-Bratzler Shear Force* 5.57 kg/cm²±0.70 vs 7.18 kg/cm²± 0.70. The conclusion is that mutation at *Ryr-1* gene caused animals produce lower quality of *PSE* pork.

Key word: *PSE* of meat, gene *Ryr-1*, DNA, physical quality

PENDAHULUAN

Penyediaan pangan bergizi merupakan salah satu kunci sukses bagi kemajuan suatu masyarakat modern untuk menghasilkan sumberdaya manusia yang berkualitas. Dibanyak negara berkembang masalah pangan gizi terutama berkaitan dengan rendahnya konsumsi protein hewani. Daging adalah salah satu protein hewani tersebut baik daging sapi, babi dan daging unggas. Tingkat konsumsi

daging sering menjadi indikator kemajuan suatu masyarakat dan bangsa. Ternak babi merupakan salah satu penghasil daging penting di Indonesia, baik untuk konsumsi dalam negeri maupun untuk ekspor.

Upaya memajukan peternakan babi di Indonesia tidak terlepas dari pemanfaatan bangsa-bangsa babi ras unggul dari Eropa dan Amerika. Disamping keunggulannya dalam

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

kemampuan produksi daging, babi ras mempunyai kekurangan yang berkaitan dengan produknya itu yakni menghasilkan daging segar dengan warna pucat, tekstur lemah (lembek) dan permukaan basah atau berair (bereksudat). Menurut Judge *et al.* (1989) daging yang demikian penampilannya secara visual tidak menarik dan dikenal dengan sebutan daging *PSE* (*pale, soft and exudative*). Mutu dagingnya lebih rendah dari pada daging normal dan menimbulkan kerugian bagi produsen, industri pengolahan dan konsumen.

Kondisi *PSE* muncul akibat dari laju glikolisis yang sangat cepat setelah ternak disembelih dan terjadi produksi asam laktat yang tidak terkontrol. Kasus *PSE* dapat terjadi pada 5 – 20% karkas babi Bangsa-bangsa babi yang sangat rentan terhadap stress adalah *Poland China, Landrace, Hampshire dan Yorkshire*, sedangkan resisten stress adalah

Chester White, Duroc dan Berkshire. Namun demikian hasil penelitian Muladno *et al.* (1999) menunjukkan bahwa pada satu sampel DNA babi *Duroc* yang diambil secara acak ternyata mengalami mutasi gen sehingga rentan stress dan menghasilkan daging *PSE*.

Patut diduga bahwa selain *Duroc* yang telah dibuktikan oleh Muladno *et al.* (1999) sebagian ternak babi ras dari bangsa lain yang dipelihara saat ini merupakan keturunan dari ternak mutan yang sejak awal dimasukkan ke Indonesia ataupun telah terjadi mutasi setelah dternakan di Indonesia. Sehubungan dengan hal tersebut di atas, maka penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi adanya mutasi dalam gen *Ryr-1* dan kaitannya dengan kejadian *PSE* pada ternak babi yang dternakan secara komersial di Indonesia.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Produksi Ternak Ruminansia Besar Fakultas Peternakan, IPB untuk analisa kualitas daging, sedangkan analisa DNA dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Hewan PAU, IPB dan Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Penelitian berlangsung selama 9 bulan dari Desember sampai dengan Agustus.

Ternak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 ekor babi keturunan Landrace jantan dan betina masing-masing 20 ekor menghasilkan daging normal dan 20 ekor menghasilkan daging *PSE*. Pematangan ternak dilakukan di Rumah Potong Hewan (RPH) Kodya Bogor pada kisaran bobot 80–100 kg. Daging diambil dari 1 lokasi anatomi otot, yaitu otot *Longissimus dorsi* (*LD*) tepat dibelakang rusuk teakhir. Pengukuran dan penilaian dilakukan terhadap daging yang berindikasi *PSE* dan normal masing-masing sebanyak 20 sampel untuk analisis kualitas daging dan analisis DNA.

Peralatan yang digunakan untuk analisis sifat fisik adalah pH meter digital *Jenway*

3150, thermometer *bimetal, Warner-Bratzler Shear*, alat penekan untuk mengukur daya ikat air, *planimeter*, timbangan elektrik *Ohaus* kapasitas 2,5 kg (kepekaan 0,01g), kulkas Shanyo 2 pintu, kertas saring, *stop watch*, *scapel, pincer*, pisau daging, alat masak dan wadah penyimpanan sampel.

Peralatan yang digunakan untuk analisa DNA antara lain: mortar, pisau/cater, tabung *Eppendorf* 1.5 ml, tabung 10 ml, pinser, pipet mikro *Eppendorf* (20, 100, 200 dan 1000 μ l), tabung *PCR*, tips *Eppendorf*, *water bath-shaker*, alat sentrifuge (*Eppendorf 5417R*), alat elektroforesis *MUPID*, lemari es, mesin *PCR* (*Takara PCR Thermal Cycler MP*), vortex, parafilm dan sarung tangan.

Bahan kimia dan enzim yang digunakan adalah *buffer TEN* (*Tris-HCl, EDTA dan NaCl*), *proteinase K* dan *RNAse SDS* 10%, 5 M *NaCl*, *phenol*, *chloroform*, *ethanol* absolut, *ethanol* 70%, *buffer TE* (*Tris-HCl dan EDTA*), *aquabides*, *aquades*, bubuk agarose, *loading dye*, *buffer TAE* (*Tris-HCl, asam asetat dan EDTA*), *ethidium bromide*, *dNTS*, 10 x Buffer *PCR*, *marker* (penanda), minyak mineral, *enzim taq DNA polymerase*, enzim *HhaI*,

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

akrilamid 30%, buffer TBE (Tris-HCl, asam borat dan EDTA), 10% APS (amonium peroxodi sulfat), TEMED (tetra methyl ethylene diamine, CTAB (cetil trimetil amonium bromida), amoniak (NH₄OH), perak nitrat (AgNO₃), natrium hidoksida (NaOH), natrium karbonat (NaCO₃), asam asetat (CH₃COOH) dan formalin.

Primer yang digunakan adalah : sepasang primer, masing-masing terdiri dari 24 nukleotida, yang dirancang berdasarkan sekuen gen (*Ryr-1*) menurut (Otsu *et al.*, 1992). *Forward primer* (Hal659F) dan *Reverse primer* (Hal659R). Sekuen DNA primer tersebut adalah sebagai berikut :

- 1) 5'-TCCAGTTTGCCACAGGTCCTACCA-3'
- 2) 5'-TTCACCGGAGTGGAGTCTCTGAG-3'

METODE PENELITIAN

Pemotongan Ternak

Ternak babi diistirahatkan dalam kandang penampungan rata-rata selama satu minggu sebelum dipotong. Selama dalam penampungan ternak diberi makan cacahan singkong dan ampas tahu. Air minum diberikan setiap hari.

Penyembelihan dilakukan diantara jam 01.00 - 04.00 pagi. Cara penyembelihan masih sederhana, demikian juga dengan peralatan yang digunakan. Ternak-ternak yang diseleksi untuk disembelih digiring keluar kandang lalu dipingsankan dengan cara dipukul pada daerah dahi. Kemudian segera diikuti dengan pengeluaran darah menggunakan sebuah pisau tajam dan ditusukkan pada daerah leher (tenggerokan) mengarah ke jantung untuk memutuskan saluran pernapasan dan pembuluh darah. Tahap berikutnya adalah pengeluarah bulu dan jeroan, pemisahan kepala lalu karkas dibagi menjadi bagian kiri dan kanan. Waktu yang dibutuhkan dari penyembelihan hingga menjadi karkas adalah kurang dari 30 menit.

Penyiapan Sampel Daging

Pengambilan sampel dilakukan selama tiga minggu untuk mendapatkan sampel yang proposional sesuai kebutuhan. Setelah pemisahan karkas sampel diambil sebanyak 0.5 kg dari setiap karkas bagian kiri, selanjutnya dipisahkan kurang lebih 50 g untuk analisis DNA dan disimpan dalam cooler box (tanpa es). Sampel untuk analisis DNA dibawa ke laboratorium Biotek Hewan PAU dan disimpan didalam freezer. Sampel daging untuk analisis sifat-sifat fisik dibawa ke laboratorium Ruminansia Besar dan langsung dilakukan

pengamatan serta pengukuran yang meliputi susut drip, susut masak dan keempukan.

Parameter yang Diamati dan Cara Pengukuran

Susut Drip (Soeparno, 2009)

Pengukuran susut drip (*drip loss*) dilakukan pada 24 jam – 48 jam pascamati. Sampel daging ditimbang sebanyak 100 g lalu dikemas dalam plastik dimana daging tidak bersentuhan dengan plastik kemasan dan cairan yang dikeluarkan atau menetes. Kemudian plastik disimpan dalam suhu 4⁰C. Setelah 24 – 48 jam daging ditimbang kembali. Selisih bobot pada waktu tersebut di atas adalah penyusutan akibat keluarnya cairan daging dan dinyatakan dengan persentase *drip loss*. Cara perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$Drip\ loss = \frac{\text{Berat jam ke-0} - \text{Berat setelah 24-48 jam}}{\text{Berat jam ke-0}} \times 100\%$$

Susut Masak (Soeparno, 2009)

Pengukuran susut masak dimaksudkan untuk mengetahui berapa banyak daging mengalami penyusutan bobot setelah proses pemasakan. Prosedurnya sebagai berikut : daging mentah sebanyak 100 g ditimbang kemudian direbus sampai temperatur internal daging mencapai 81⁰C. Daging diangkat dan diletakkan dalam wadah yang dialas kertas saring untuk menyerap rembesan air. Kemudian ditimbang beberapa kali untuk mendapatkan berat yang konstan. Perhitungannya berdasarkan persentase selisih bobot daging sebelum dan sesudah perebusan terhadap bobot daging sebelum

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

perebusan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Susut Masak} = \frac{\text{Bobot mentah} - \text{Bobot masak}}{\text{Bobot Mentah}} \times 100\%$$

Keempukan (Soeparno, 2009)

Uji keempukan daging dilakukan dengan menggunakan alat *Wamer-Bratzler Shear*. Sampel daging yang digunakan adalah seberat 100 g. Termometer *bimetal* ditancapkan pada sampel sampai menembus kebagian dalam daging kemudian dimasukkan kedalam air rebusan, sampel harus direndam seluruhnya. Perebusan dilakukan sampai suhu *internal* daging mencapai 81°C seperti yang ditunjukkan pada termometer. Kemudian daging didinginkan dan dicetak seturut arah serat daging dengan alat pengebor (*corer*) berdiameter 1.27 cm. Selanjutnya cetakan daging dipotong dengan menggunakan *Wamer-Bratzler Shear* untuk mengetahui berapa daya yang dibutuhkan untuk memutuskannya (kg/cm²).

Analisis DNA**Ekstraksi dan Pemurnian DNA**

Isolasi DNA daging mencakup ekstraksi dan pemurnian DNA yang didasarkan pada metode Sambrook *et al.* (1989).

Ekstraksi DNA – Sebanyak 30 mg jaringan daging dari setiap sampel yang telah dipotong dengan ukuran 4 mm, digerus sampai halus dan homogen. Kemudian daging yang sudah dihaluskan dimasukkan dalam tabung *Eppendorf* 1.5 ml yang berisi 500 µl *buffer TEN*. Selanjutnya ditambahkan 20 µl *proteinase-K* (10 mg/ml) dan 50 µl 10% *SDS*, divortex, diinkubasi dalam *water bath shaker* selama 2 jam pada suhu 55°C. Setelah inkubasi, larutan yang tersuspensi ditambahkan 5 M *NaCl* 50 µl, *phenol* 400 µl dan *phenol/chloroform* (*CIAA*) 400 µl (1/1). Larutan yang telah tercampur dimasukkan kedalam *water bath shaker* dalam keadaan tergoyang pada suhu 29°C selama 1 jam kemudian disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 3000 *rpm*, yang pada akhirnya terbentuk 2 lapisan. Bagian atas larutan

(*supernatan*) dipindahkan ke tabung yang baru dengan cara disedot, sedangkan sisanya dibuang. Selanjutnya ditambahkan 5 M *NaCl* 50 µl dan *ethanol absolute* 1 ml. Tabung dikocok dengan tangan hingga terbentuk benang putih (*DNA*). Sesudah itu diinkubasi pada suhu -20°C selama 60 menit atau dapat juga dibiarkan semalaman (*over night*). Setelah inkubasi, larutan disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 8000 *rpm* sehingga akan terbentuk endapan putih yakni *DNA*. Kemudian cairan dibuang dengan hati-hati, sesudah itu ditambahkan *ethanol* 70% sebanyak 1 ml lalu disentrifuge dengan kecepatan 8000 *rpm* pada suhu ruang selama 5 menit. Cairan dengan tabung (*ethanol*) dibuang dengan sangat hati-hati, kemudian dikeringkan selama 30-60 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan 50 µl *buffer TE* dan disimpan pada suhu -20°C.

Pemurnian DNA - sampel *DNA* dan *RNA* yang terlarut dalam 50 µl *buffer TE* ditambah 5 µl *RNA-se* (10 mg/ml) dan *divortex*, kemudian diinkubasi dalam *water bath shaker* selama 3 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, larutan diencerkan dengan menambahkan 200 µl *aquabides*, tambahkan satu volume *phenol/chloroform* sebanyak 200 µl (1:1) dan dicampur merata dengan cara tabung digoyang-goyang selama 5 menit. Tabung disentrifuge dengan kecepatan 8000 *rpm* pada suhu ruang selama 10 menit. Kemudian *supernatan* (larutan) yang terbentuk dipindahkan ke tabung *Eppendorf* yang baru, tambahkan 25 µl 5 M *NaCl* dan 500 µl *ethanol* absolut dingin. Kemudian diinkubasi pada suhu -20°C selama 1 jam. Tabung disentrifuge dengan kecepatan 8000 *rpm* selama 10 menit, kemudian endapan *DNA* yang terbentuk dikeringkan (cairan dibuang) dan ditambahkan 50 µl *aquabides* selanjutnya disimpan pada suhu -20°C.

Analisa PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR dilakukan dengan menggunakan tabung *Eppendorf* 0.5 ml dalam mesin *PCR* (*FTS 960 thermal sequencer*). Setiap sampel *DNA* diencerkan dengan *aquabides* dengan perbandingan 1:4 yaitu 1µl *DNA* dan 4 µl *aquabides*. Satu µl produk *DNA* dimasukan

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

kedalam tabung khusus PCR, kemudian ditambahkan 2.25 µl 10x buffer PCR, 200 µM campuran dNTP's, 200 ng "forward" primer (Hal659F), 200 ng "reverse" primer (Hal659R), 0.5 unit enzim taq polymerase, dan H₂O sebanyak 6.65µl dalam total volume 25 µl. Setiap campuran reaksi dilapisi dengan 50 µl minyak mineral untuk mencegah terjadinya penguapan.

Reaksi PCR diprogramkan sebagai berikut: suatu tahap dinaturasi tunggal pada suhu 94°C selama 4 menit diikuti oleh 35 putaran, masing-masing terdiri dari tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, tahap penguatan (annealing) pada suhu 64 °C selama 2 menit dan tahap perpanjangan pada suhu 72°C selama 3.5 menit. Suatu tahap perpanjangan ekstra selama 5 menit ditambahkan setelah putaran ke-35.

Elektroforesis

Untuk penentuan produk PCR dilakukan separasi DNA (elektroforesis) gel agarose dengan pewarnaan ethidium bromide atau dapat dilihat melalui elektroforesis gel poliakrilamida 6% dengan mencampurkan bahan – bahan sebagai berikut : 4 ml akrilamid 30%, 4 ml TBE 5x, 12 ml aquadest, 15 µl TEMED dan 160 µl APS 10% dalam gelas ukur. Bahan-bahan tersebut dicampur merata, kemudian dituang ke dalam cetakan dan dimasukkan sisir cetakan yang akan membentuk sumur-sumur kecil. Setelah gel terbentuk sisir diangkat dan produk DNA hasil PCR siap

dimasukan pada sumur yang sudah tersedia. Gel kemudian dipindahkan ke tangki elektroforesis dan dimasukan buffer 1x TBE, kemudian 2µl produk hasil PCR dan 1 µl loading dye dicampur dan dimasukan kedalam sumur gel yang sudah ada. Salah satu sumur biasanya dimasukan marker (penanda) sebanyak 2 µl sebagai standar pengukur produk DNA yang teramplifikasi, kemudian dilakukan elektroforesis pada tegangan 180 volt selama 60 menit.

Analisis PCR-RFLP

Untuk konfirmasi bahwa fragmen hasil PCR adalah gen Ryr-1 dilakukan analisis situs restriksi menggunakan enzim restriksi Hhal. Produk DNA sebanyak 5 µl dimasukan ke dalam tabung Eppendorf 0.5 ml yang baru. Satu unit enzim dan buffer restriksi 1x ditambahkan. Air suling (aquabides) ditambahkan kedalam tabung hingga mencapai volume 20 µl. Tabung selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam (semalam).

Elektrophoresis gel produk PCR setelah pemotongan

Untuk mendeteksi produk PCR setelah pemotongan peneliti menggunakan elektrophoresis gel poliakrilamida dengan metode pewarnaan perak (silver staining) yang berbeda setiap tahap dan menggunakan beberapa bahan kimia. Tahapan metode pewarnaan perak (silver staining) dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Metode pewarnaan perak (silver staining)

Tahap	Bahan Kimia	Waktu
I	CTAB 200 mg / 200 ml aquadest	20 Menit
II	Aquadest	20 Menit
III	NH ₄ OH 2.4 ml / 200 ml aquadest	15 Menit
IV	Campuran AgNO ₃ 0.32 g / 200 ml aquadest, NaOH 0.8 ml dan NH ₄ OH 0.8 ml	15 Menit
V	Aquadest	15 Menit
VI	Campuran Na ₂ CO ₃ 4 g / 200 ml aquadest dan Formalin 100 µl	Hingga timbul pita
VII	CH ₃ COOH 0.2 ml / 200 ml aquadest	15 Menit
VIII	Gliserol (tentative)	15 Menit

Sumber : Tegelstrom, (1992).

Setelah menggunakan metode di atas produk PCR setelah pemotongan juga dapat dilihat dengan melakukan elektroforesis pada gel agarose 1% (b/v) yang dibuat dari 0,5 g agarose dalam 50 ml larutan 1x TAE. Sebelum melakukan elektroforesis, ditambahkan 5 µl larutan pemberat (*loading dye*) ke dalam sampel DNA hasil amplifikasi dan di masukan ke dalam 1,5% agarose gel yang berisi larutan *buffer 1x TAE*. Alat elektroforesis di nyalakan pada tegangan 110 volt selama 45 menit, gel ditransfer ke

kontainer yang mengandung *buffer 1x TAE* diwarnai dengan *ethidium bromide* dan dibilas dengan hati-hati selama 15 menit. Gel akhirnya ditempatkan diatas suatu transilluminator *ultra-violet (UV)* dan difoto dengan kamera *Polaroid*.

Analisis Data

Data kuantitatif diolah dengan menggunakan prosedur Sidik Ragam (SAS, 1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 2 menjelaskan perbedaan yang terjadi pada daging babi normal dan daging babi *PSE*

dengan beberapa variabel pengukuran kualitas fisik daging sampai pada pengujian dan analisa DNA.

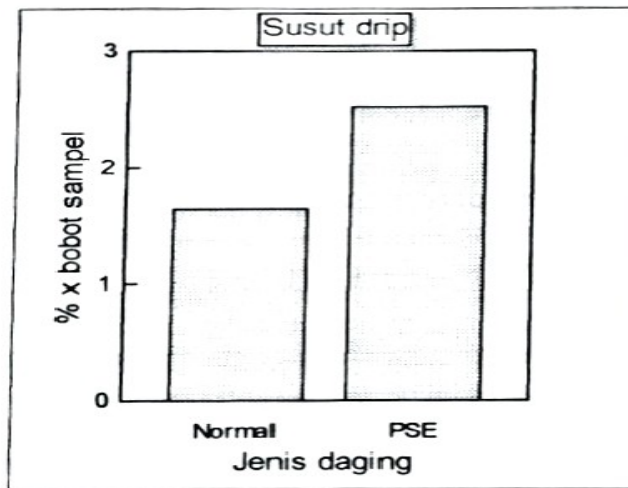
Tabel 2. Rataan hasil pengukuran susut *drip*, susut masak dan keempukan daging babi normal dan *PSE*

Pengukuran Variabel	Jenis Daging		P-value
	Normal (n=20)	PSE (n=20)	
Susut <i>drip</i> (%)	1.65 ± 0.16	2.52 ± 0.17	P < 0.0151
Susut masak (%)	28.79± 2.64	35.09 ± 2.38	P < 0.0001
<i>Shear force</i> (kg/cm ²)	5.57 ± 0.70	7.18 ± 0.70	P < 0.0109

Susut Drip

Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan bahwa menetesnya air dari daging *PSE* lebih tinggi sehingga terjadi penyusutan bobot yang lebih tinggi pula dibanding daging normal sebagaimana dihasilkan penelitian ini, yakni 2.52% ± 0.17

pada daging *PSE* dan 1.65% ± 0.16 pada daging normal. Perbedaan ini secara langsung diakibatkan oleh daya mengikat air yang lebih rendah pada daging *PSE*, dimana menurunnya daya mengikat air maka protein otot tidak mampu menahan airnya sehingga sebagian akan terlepas yang dikenal sebagai *drip*.



Gambar 1. Histogram susut drip daging penelitian

de Smet *et al.* (1992) dan Byrem *et al.* (1999) melaporkan bahwa dari tiga genotipe babi yakni mutan (nn), heterozigot (Nn) dan normal (NN), *drip loss* tertinggi adalah dari daging babi nn, terendah dari daging NN dan *drip loss* daging babi Nn berada diantara (*intermediate*) kedua genotipe lain. de Smet *et al.* (1992) juga melaporkan bahwa meningkatnya kandungan lean karkas sangat berpengaruh meningkatkan *drip loss* daging ketiga genotipe, dekat kepada nn pada kandungan *lean karkas* < 57.5% dan 57.5–60.0% sementara itu lebih dekat kepada NN pada kandungan *lean karkas* 60.0–62.5% dan *intermediate* pada >62.5% *lean karkas*.

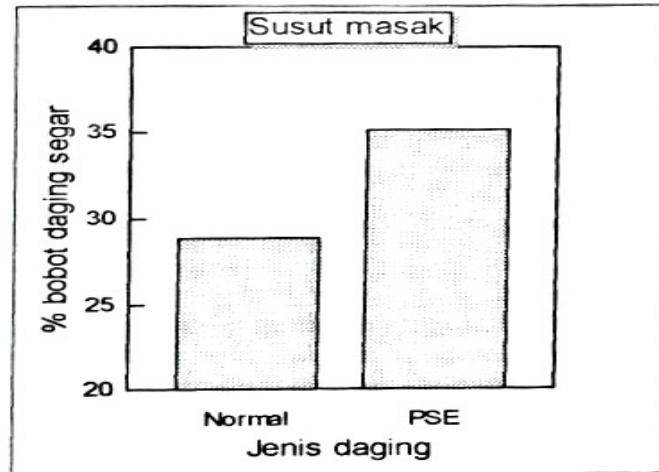
Pada dasarnya para peneliti melaporkan hasil pengukuran *drip loss* dengan pola nn > Nn dan NN yang terendah namun angka yang ditampilkan bervariasi. de Smet *et al.* (1992) melaporkan nn 6.9%, Nn 6.2% dan NN 5.3%, de Smet *et al.* (1995) melaporkan 6.5% untuk PSE (nn) dan 5.7% untuk normal (NN). Byrem *et al.* (1999) melaporkan angka yang lebih rendah yaitu nn 2.92%, Nn 2.18% dan NN 1.38%.

Susut Masak

Hasil penelitian ini pada Tabel 2 menunjukkan bahwa susut masak daging PSE

lebih tinggi daripada susut masak pada daging babi normal, dengan perbandingan $35.09 \pm 2.38\%$ vs $28.79 \pm 2.64\%$ dari bobot daging segar. Sebagaimana telah dibahas dibagian depan, terbentuknya daging PSE oleh berbagai proses biokimia pascamati mengakibatkan hasil penilaian terhadap berbagai atribut kualitas daging PSE lebih rendah daripada daging babi normal. Daya mengikat air yang lebih rendah berkonsekuensi daging akan kehilangan lebih banyak air yang diakibatkan oleh beberapa pengaruh. Menurut Swatland (1984), Judge *et al.* (1989) dan Soeparno (2009) salah satu penyebab pengaruh tersebut adalah pemanasan saat dimasak.

de Smet *et al.* (1995) dan Monin *et al.* (1999) melaporkan susut masak yang lebih tinggi pada daging PSE yang dihasilkan oleh ternak mutan sedangkan Leach *et al.* (1996) melaporkan susut masak lebih tinggi pada daging ternak heterozigot dibanding daging babi homozigot normal. Variabel kualitas lain yang berkaitan dengan kehilangan air juga lebih tinggi pada daging babi mutan atau daging PSE. Dikemukakan pula oleh Monin *et al.* (1999) bahwa daging matang dari ternak mutan lebih kering dan kandungan sari (*juice*) lebih rendah.

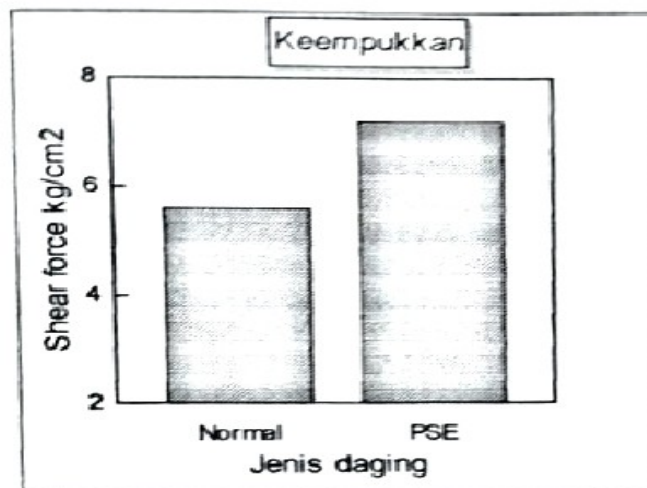


Gambar 2. Histogram susut masak daging penelitian

Keempukan Daging

Hasil pengukuran pada Tabel 2 menunjukkan bahwa daging babi normal lebih empuk dibandingkan daging PSE. Untuk memutuskan potongan daging normal silinder dengan diameter 1.27 cm hanya dibutuhkan tenaga $5.57 \pm 0.70 \text{ kg/cm}^2$ sedangkan untuk daging PSE dibutuhkan tenaga sebesar

$7.18 \pm 0.70 \text{ kg/cm}^2$. Lundstrom *et al.* (1995) melaporkan bahwa daging ternak babi yang memiliki gen *halothane* (Nn) lebih alot dibanding daging babi normal (NN). Nilai *shear force* yang dihasilkan adalah 2.20 kg/cm^2 untuk babi heterozigot pembawa gen *halothane* dan 4.7 kg/cm^2 untuk daging babi normal, lebih rendah daripada hasil penelitian ini.



Gambar 3. Histogram tingkat keempukan daging penelitian.

Estrade dan Vignon (1991) melaporkan bahwa otot babi rentan stres atau daging PSE tetap mempertahankan struktur miofibril yang terjaga dengan baik selama penyimpanan hingga delapan hari. Dikemukakan bahwa walaupun level *Ca* intraseluler tinggi yang seharusnya *cytosolic calcium dependent*

protease, enzim yang terlibat dalam pengempukan daging, namun sebagian aktivitas enzim dihambat sehingga tidak terjadi kerusakan pada miofibril. Hal ini yang mengakibatkan daging PSE lebih alot daripada daging normal. Boles *et al.* (1992) melaporkan tingkat kelarutan protein

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

sarkoplasma dan miofibrilar otot *Longissimus dorsi* dari babi rentan stres yang lebih rendah dibanding hasil dari ternak normal dan heterozigot.

Tingkat keempukan tetap merupakan penentu utama kualitas dari daging, karena konsumen tidak akan menyukai daging yang sekalipun marblingnya tinggi, juicy dan flavor menarik tetapi alot (Preston dan Wilis, 1979). Hal yang sama dikemukakan oleh McFarlane dan Unruh (1996) bahwa keempukan menjadi penentu utama penerimaan daging babi oleh konsumen.

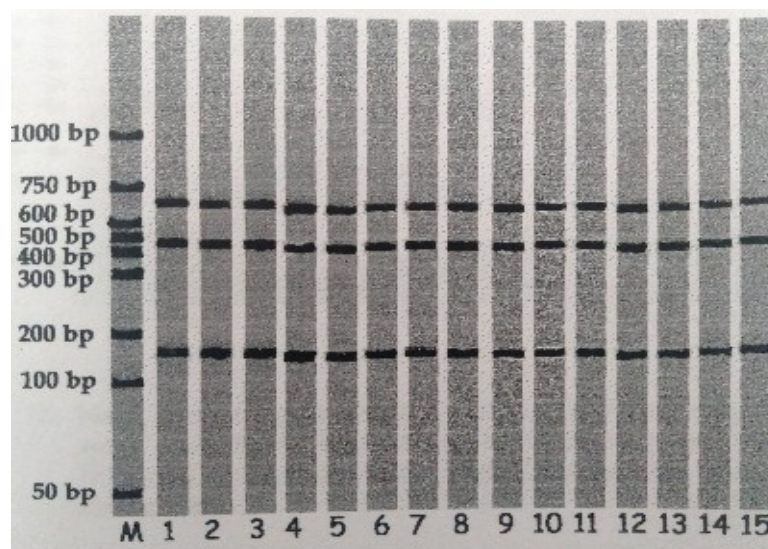
Dari hasil evaluasi sensoris yang berkaitan dengan kualitas makan, Monin *et al.* (1999) melaporkan bahwa sifat-sifat daging babi mutan sebagai berikut: tidak empuk, ketika makan terasa keras dan berserat, lebih elastis dan kurang bergranula sehingga sulit ditelan dibandingkan daging babi normal yang teksturnya lebih empuk.

Analisa DNA

Pada penelitian ini didapatkan hasil ekstraksi dan pemurnian DNA yang berkualitas baik dari ternak babi keturunan Landrace, yakni 20 ekor yang menghasilkan daging

normal dan 20 ekor yang menghasilkan daging *PSE*. Kemudian dilanjutkan dengan reaksi amplifikasi DNA (reaksi PCR). Hasil amplifikasi DNA, dengan sepasang primer spesifik sebagai pengapit, dipisahkan dengan elektroforesis gel poliakrilamida 6% dilanjutkan dengan teknik pewarnaan perak (*silver staining*). Pembuktian dengan elektroforesis dengan gel poliakrilamida 6% menunjukkan adanya fragmen gen *Ryr-1* (*reseptor ryanodine*) dengan ukuran 659 bp (terletak diantara pita marker berukuran 500 bp dan 750 bp). Ini menandakan bahwa lokasi mutasi pada fragmen gen *Ryr-1* teridentifikasi melalui PCR.

Pemotongan dengan menggunakan enzim restriksi *HhaI* menunjukkan adanya tiga fragmen DNA dengan ukuran produk masing-masing 659 bp, 493, dan 166 bp yang dihasilkan dari produk PCR ternak babi normal, yang berarti walaupun ternak tersebut normal namun ternaknya adalah pembawa gen mutasi yaitu heterozigot normal (Nn). Hasil analisa situs restriksi terhadap fragmen gen *Ryr-1* hasil amplifikasi disajikan pada Gambar 4a dan 4b.



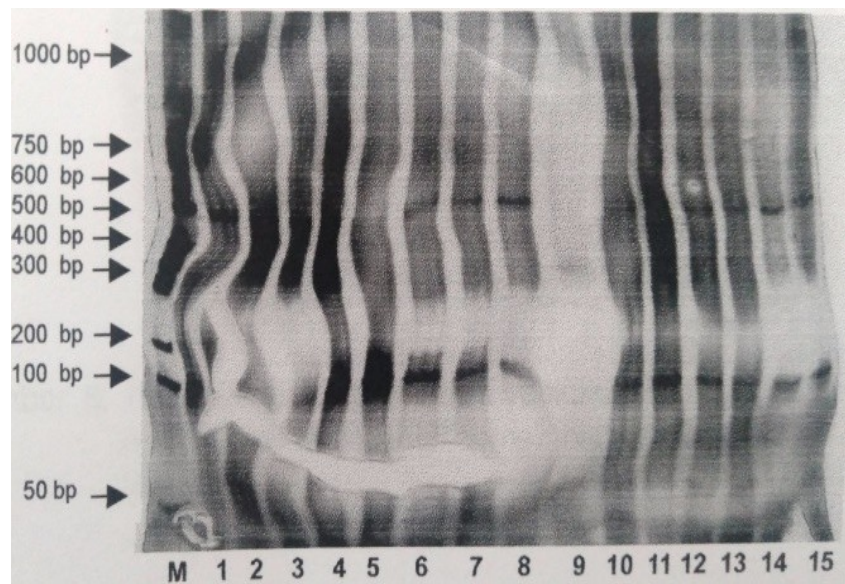
Gambar 4a. Hasil pemotongan enzim restriksi *HhaI* terhadap fragmen gen *Ryr-1* hasil PCR-RFLP ternak babi normal (Lajur 1-15), lajur M (marker). Gambar hasil rekayasa dari Gambar 4b.

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

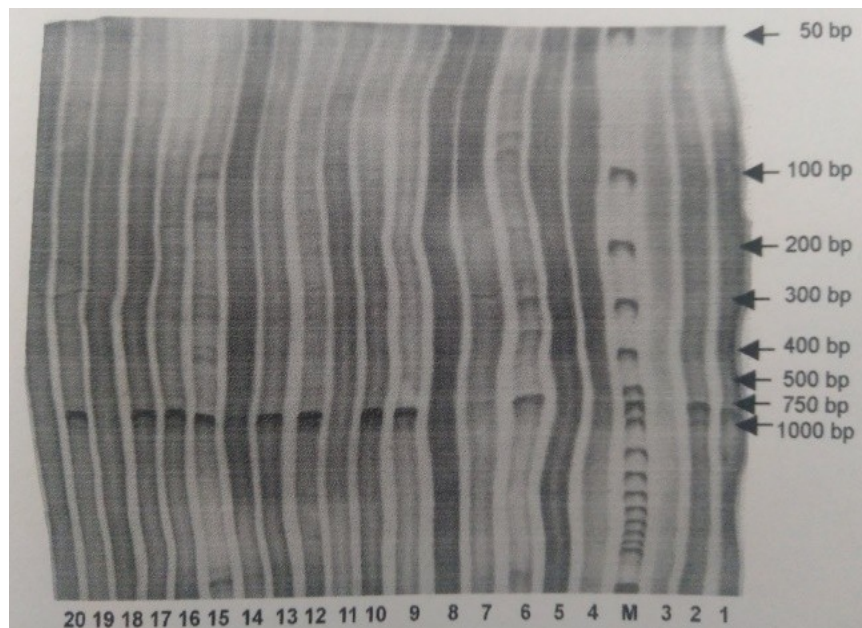
Sementara itu pada produk PCR babi yang menghasilkan daging PSE, seperti diharapkan, hasil analisa PCR-RFLP hanya menghasilkan fragmen DNA tunggal dengan ukuran produk 659 bp, berarti ternak tersebut adalah ternak yang telah mengalami mutasi gen yaitu resisif normal (nn) karena fragmen tersebut tidak terpotong oleh enzim *HhaI*. Hasil analisis situs restriksi terhadap fragmen gen *Ryr-1* hasil amplifikasi daging PSE terlihat pada Gambar 5.

Pada gen babi normal *cytosine* terdapat pada nukleotida 493 dan apabila tidak terjadi

mutasi maka *cytosine* ini akan dipotong oleh enzim *HhaI* sehingga menghasilkan dua fragmen DNA. Sebaliknya apabila terjadi mutasi maka pada posisi nukleotida 493 bukan *cytosine* sehingga tidak dapat dipotong oleh enzim *HhaI* dan menghasilkan fragmen DNA tunggal (Fuji *et al.*, 1991; Muladno *et al.*, 1999). Jadi pada penelitian ini dapat membuktikan bahwa daging PSE dihasilkan oleh ternak babi keturunan Landrace yang mengalami mutasi gen *Ryr-1*.



Gambar 4b. Hasil pemotongan enzim restriksi *HhaI* terhadap fragmen gen *Ryr-1* hasil PCR-RFLP ternak babi normal (Lajur 1-15), lajur M (mareker). Gambar asli dari Gambar 4a yang mengalami kerusakan.



Gambar 5. Hasil pemotongan enzim restriksi *HhaI* terhadap fragmen gen *Ryr-1* hasil PCR-RFLP ternak babi PSE (Lajur 1-20). Lajur M (Marker)

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daging babi PSE mempunyai kualitas yang lebih rendah daripada daging babi normal. Sebagaimana diharapkan, babi yang

menghasilkan daging PSE mengalami mutasi pada gen *Ryr-1* berdasarkan analisis PCR-RFLP.

DAFTAR PUSTAKA

- Barton-Gade, P. and M. Baltzer. 1991. Relationship between halothane status and meat quality in Landrace and Large White pigs. Proc. of the 37th International Congress of Meat Science and Technology. Vol. 1. pp33-36. Kulmbach, German.
- Boles, J.A., F.C Parrish, Jr., T.W. Huait, and R.M. Robson. 1992. Effect of the porcine stress syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar/cytoskeletal proteins. *J. Anim. Sci.* 70:545-464
- Byrem, T.M., A.M. Booren, G.M. Hill, Fun Sun Chu and G.M. Strasburg. 1999. The effect of cyclopiazonic acid on the development of pale, soft, and exudative pork from pigs of devined Malignant Hyperthermia genotype. *J. Anim. Sci.* 77:166-172.
- Cheah, K.S., A.M. Cheah, A.R. Crosland, J.C. Casey and A.J. Webb. 1984. Relationship between Ca^{2+} release, sarcoplasmic Ca^{2+} , glycolysis and meat quality in halothane-sensitive pigs. *Meat Sci.* 10:117.
- de Smet, S., H. Pauwels, W. Eeckhout, D. Demeyer, I.Vervaeke, S. de Bie, G. Van De Voorde and M. Casteels. 1992. Relationships between halothane sensitivity, carcass quality and meat quality in Belgian slaughter pigs. In *Pork Quality: Genetic and Metabolic Fa. ctors*. OECD Workshop. Ed. by E. Puolanne and D.I. Demeyer. Finland, Helsinki. Pp 273-286.
- de Smet, S., H. Pauwels, I. Vervaeke, D. Demeyer, S. de Bie, W. Eeckhout and M. Casteels. 1995. Meat and carcass quality

Sipahelut .: Pengaruh mutasi gen

- of heavy muscled Belgian slaughter pigs as influenced by halothane sensitivity and breed. *Anim. Sci.* 61:109-114.
- Estrade, M., E. Rock and X. Vignon. 1991. Ultrastructural post mortem changes in myofibrillar structure on normal and halothane-sensitive pigs. Proc. of the 37th International Congress of Meat Science and Technology. Vol. 1. pp 352-355. Kulmbach, German.
- Fuji, J., K. Otsu, F. Zorzato, S. de Leon, V.K. Khanna, J.E. Weiler, P.J. O'Brien and D.H. MacLennan. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253:448-451.
- Judge, M.D., E.D. Aberle, J.C. Forrest, H.B. Hendrick and R.A. Merkel. 1989. Principles of Meat Science. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa.
- Leach, L.M., M. Ellis, D.S. Sutton, F.K. McKeith, and E.R. Wilson. 1996. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. *J. Anim. Sci.* 74:934-943.
- Kang, C.G., M. Mugumura, T. Fukazawa, and T. Ito. 1978. Difference in Z-line removal between normal and PSE porcine myofibrils. *J. Food. Sci.* 43:508
- Lundstrom, K.A. Karrison, I. Hansson., M. Johansson, L. Andersson and K. Andersson. 1995. Production, carcass and meat quality traits of F₂-crosses between European Wild Pigs and domestic pigs including halothane gene carries. *Anim. Sci.* 61:325-331.
- Marby, J.W., L.L. Christian and D.L. Kuhlers. 1981. Inheritance of porcine stress syndrome. *The of Heredity* 72:429-430
- McFarlane, B.J and J.A. Unruh. 1996. Effect of blast chilling and postmortem calcium chloride injection on tenderness of pork longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 74:1842-1845.
- Monin, G., C. Larzul, P. Le Roy, J. Culioli, J. Mourut, S. Rousset-Akrim, A. Talmant, C. Touraille and P. Sellier. 1999. Effects of halothane genotype and slaughter weight on texture of pork. *J. Anim. Sci.* 77: 408-415.
- Muladno, R. Priyanto and S. Sulandari. 1999. Identification of Porcine Stress Syndrome in commercial pigs associated quality. One Day Seminar on Science and Technology. Indonesia Toray Science Foundation, Jakarta.
- Otsu, K., M.S. Philips, V.K. Khanna, S. de Leon, and D.H. MacLennan. 1992. Refinement of diagnostic assay for probable causal mutation for porcine ryanodine and human malignant hyperthermia. *Genomics*, 13:835-837.
- Preston, T.R. and M.B. Willis. 1979. Intensive Beef Production. Pergamon Press, Oxford.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning, A Laboratory Manual. Second Edition. Cold Spring Harbour Lab. Press. New York.
- SAS. 1987. SAS/STAT Guide for Personal Computer version 6 Edition, Statistical Analysis System Institute, Inc., Cary, NC, USA.
- Soeparno. 2009. Ilmu dan Teknologi Daging. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Swatland, H.J. 1992. Paleness, softness and exudation in pork – Review. Pork Quality: Genetic and Metabolic Factors. OECD Workshop. Finland, Helsinki. Ed by E. Puolanne and D.I. Demeyer. pp 273-286.
- Tegelstrom, H. 1992. Mitochondrial DNA in natural population: An improved routine for the screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7:226-229.
- van Lack, H.L., J.M. and F.J.M. Smulders. 1999b. Chilling rate and pork quality-an orientation. Proc. Of the 37th International Congress of Meat Science and Technology. Vol. 1. pp 154-156. Kulmbach, German.