

## **Produksi *Germline Chimera* dan Transfer Donor *Primordial Germ Cell-Gonad* Ayam KUB**

### **(Production of *Germline Chimera* and Transfer of *Gonadal-Primordial Germ Cells Donors* of KUB Chicken)**

Sopiyana S, Kostaman T

*Balai Penelitian Ternak, Jalan Veteran III, Ciawi-Bogor*  
*sopiyana.soni@gmail.com*

#### **ABSTRACT**

The use of *Primordial Germ Cell* (PGC) in transgenic studies for the effective production of *germline chimera* was recommended. The aim of this study was to form KUB *germline chimera* by purifying the donor PGCs before transferring it to the recipient embryo (White Leghorn chicken=WL) and evaluate how the recipient embryo's ability to survive in the incubator, and hatchability. In this study 200 fertile eggs of KUB and 75 fertile WL breed were incubated at 38°C and 60% humidity in a portable incubator. *Gonadal-PGCs* - of KUB chicken were taken from the gonads aged 7 days which were purified by the PBS (-) method before being transferred to recipient embryos. The production of *germline chimera* as a result of *gonadal-PGCs* donor transfer was analyzed descriptively. The results showed that for the development of embryos transferred with *gonadal-PGCs* as many as 25 cells could survive until the 14th day, while those transferred with 50 and 100 cells to recipient embryos hatched 2 (20%) and 4 (40%). It was concluded that the amount of *gonadal-PGCs* embryos transferred to the recipient was one factor that influence the success of the development *germline chimeras*.

**Key words:** KUB, White Leghorn, *gonadal-PGCs*, *germline chimera*

#### **ABSTRAK**

Penggunaan *Primordial Germ Cell* (PGC) dalam studi transgenik untuk produksi *germline chimera* yang efektif sangat disarankan. Tujuan penelitian untuk membentuk *germline chimera* ayam KUB dengan cara memurnikan terlebih dahulu PGC-gonad donor sebelum ditransfer ke embrio resipien (ayam White Leghorn=WL) dan dilihat bagaimana kemampuan embrio resipien dapat bertahan hidup pada mesin inkubator, serta daya tetasnya. Dalam penelitian ini digunakan 200 butir telur fertil ayam KUB dan 75 butir telur fertil ayam WL, yang masing-masing diinkubasi pada suhu 38°C dan kelembaban 60% dalam inkubator portabel. PGC-gonad ayam KUB diambil dari gonad umur 7 hari yang dimurnikan dengan metode PBS (-) sebelum ditransferkan ke embrio resipien. Produksi *germline chimera* hasil transfer donor PGC-gonad dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk perkembangan embrio yang ditransfer dengan PGC-gonad sebanyak 25 sel dapat bertahan hidup sampai hari

ke-14, sedangkan yang ditransfer dengan 50 dan 100 sel ke embrio resipien berhasil menetas masing-masing sebanyak 2 ekor (20%) dan 4 ekor (40%). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jumlah PGC-donor yang ditransfer ke embrio resipien merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan pembentukan *germline chimera*.

**Kata kunci:** KUB, White Leghorn, PGC-gonad, *germline chimera*

## PENDAHULUAN

Hewan transgenik saat ini banyak diperlukan dalam berbagai jenis penelitian di bidang bioteknologi, obat-obatan, dan dalam rangka preservasi sumber daya genetik jenis yang sudah terancam punah. Pada unggas, ayam telah terbukti dapat berguna untuk penelitian transgenik. Saat ini telah dikembangkan sistem transgenik menggunakan PGC dari embrio di mana metode ini dirasakan sangat efisien. Salah satu kegiatan yang telah dilakukan adalah dengan pembentukan *germline chimera* pada unggas di antaranya pada ayam. Ayam *germline chimera* adalah ayam yang memiliki lebih dari satu populasi genetik. Terdapat dua strategi dasar untuk memproduksi *germline chimera* pada unggas, yaitu (a) Dengan menggunakan PGC sebagai donor untuk ditransfer ke embrio lainnya sebagai resipien) dan (b) Dengan sel blastodermal. Kemajuan teknis yang terbaru generasi *germline chimera* dengan mentransfer PGC telah memungkinkan preservasi sumber daya genetik unggas dalam bentuk lengkap.

Menggunakan sifat migrasi dari PGC, maka *germline chimera* telah dapat diproduksi pada ayam lokal dengan mentransfer PGC-sirkulasi segar atau beku (Tajima et al. 2003) atau dengan mentransfer PGC-gonad yang dikoleksi dari gonad embrio (Tajima et al. 2004) ke dalam pembuluh darah embrio resipien (Nakajima et al. 2011). *Primordial germ cell* dapat dipergunakan sebagai sumber genetik dan untuk memproduksi ayam transgenik (Furuta 2012). Penggunaan PGC dalam studi transgenik untuk produksi *germline chimera* yang efektif sangat disarankan.

Beberapa hasil penelitian telah dilaporkan mengenai keberhasilan penggunaan PGC sebagai materi untuk penelitian transgenik. Di Indonesia sendiri telah berhasil dilakukan untuk pertama kalinya pembentukan *germline chimera* pada ayam lokal Indonesia, yaitu ayam Gaok, di mana Kostaman et al. (2014) telah berhasil mentransfer PGC-sirkulasi ayam lokal Gaok ke embrio resipien ayam White Leghorn (WL). Penelitian jumlah PGC pada ayam KUB juga telah dilakukan dengan hasil bahwa jumlah PGC-sirkulasi, yaitu 53 sel per embrio pada stadia 15 HH (Sopiyana et al. 2016), sedangkan PGC-gonad 143,5 sel per embrio pada umur embrio 7 hari (Sopiyana et al. 2017).

Tujuan penelitian ini untuk membentuk *germline chimera* ayam KUB PGC-gonad ayam lokal ke embrio resipien ayam WL dan dilihat bagaimana kemampuan embrio resipien bertahan hidup pada inkubator serta daya tetas dari

embrio resipien. Sebagai hewan model donor digunakan ayam lokal KUB dan sebagai hewan model resipien digunakan ayam WL.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Plasma Nutfah Unggas, Balitnak, Ciawi-Bogor.

### Penyediaan embrio donor dan resipien

Sebanyak 200 butir telur fertil ayam KUB untuk penyediaan embrio donor dan 75 butir telur fertil ayam WL sebagai embrio resipien diinkubasi pada suhu 38°C dengan kelembaban 60% dan diputar 90° setiap 30 menit menggunakan inkubator portabel (P-008B Biotype; Showa Furanki, Saitama, Jepang). Telur fertil ayam KUB diinkubasi sampai mencapai umur embrio 7 hari untuk sumber PGC-gonad. Umur embrio 7 hari berdasarkan hasil terbaik jumlah PGC-gonad ayam KUB yang telah didapat berdasarkan penelitian sebelumnya, yaitu jumlah PGC-gonad terbanyak pada ayam lokal didapatkan pada umur embrio 7 hari waktu inkubasi serta Periode waktu terbaik untuk mengisolasi PGC-gonad lebih baik pada hari ke-7 tahapan perkembangan embrio dengan menggunakan metode PBS (-) (Sopiyana et al. 2017).

Salah satu proses kegiatan yang terpenting dalam pembentukan *germline chimera* adalah perkembangan embrio donor dalam mesin penetasan atau inkubator sesaat setelah ditransfer ke embrio resipien. Perkembangan embrio pada ayam yang terjadi diluar tubuh induk, menyebabkan banyak kemungkinan faktor-faktor yang mempengaruhinya selama perkembangan embrio 21 hari sampai embrio menetas. Mesin penetasan atau inkubator merupakan peralatan penting dalam proses penetasan yang menggantikan fungsi dan peran induk. Hal yang mempengaruhi penetasan berkaitan dengan mesin inkubator diantaranya faktor suhu, kelembaban, ventilasi, posisi telur, dan pemutaran telur. Faktor-faktor tersebut dalam penelitian ini dapat diabaikan karena inkubator yang digunakan merupakan inkubator portabel yang telah diprogram secara otomatis mengenai suhu, kelembaban, ventilasi, posisi, dan pemutaran telur sesuai dengan yang dikehendaki, yaitu suhu 38°C dengan kelembaban 60%, ventilasi disesuaikan untuk sirkulasi udara, posisi telur vertikal dengan bagian tumpul di sebelah atas, diputar 90° setiap 30 menit. Suhu dan kelembaban relatif harus diatur selama inkubasi agar kehidupan embrio di dalam telur dapat dipertahankan pada tingkat optimal. Pembentukan embrio yang optimal terjadi saat suhu 37,2-39,4°C (Ensminger et al. 2004). Suhu yang terlalu tinggi mengakibatkan mortalitas embrio meningkat, sebaliknya suhu yang terlalu rendah akan menghambat pertumbuhan embrio dan telur tidak menetas.

## Isolasi dan koleksi donor PGC-gonad

Telur ayam KUB umur 7 hari kemudian diambil dari incubator. Selanjutnya menyiapkan peralatan yang akan digunakan dan isi *petri dish*, *charcoal plate*, dan *ependorf* 1,5 ml dengan larutan PBS (-). Kerabang telur dipecahkan dengan menggunakan pinset pada bagian tumpulnya sampai berlubang kecil. Kerabang telur dibuka dengan perlahan-lahan sampai menjadi lubang besar dan terlihat embrionya. Ambil embrio dengan hati-hati dan masukkan ke dalam *petri dish* yang telah diisi larutan PBS (-). Kegiatan pengambilan gonad dimulai dengan mengambil embrio dan ditempatkan di dalam *charcoal plate* yang telah diisi larutan PBS (-). Letakkan embrio dalam *charcoal plate* dengan posisi bagian *abdomen* menghadap ke atas. Kemudian tancapkan jarum pada bagian kepala, dan kedua kakinya, yang dimaksudkan untuk memudahkan agar embrio tidak bergerak selama pengambilan gonad. Pisahkan/keluarkan dengan menggunakan pinset tajam secara hati-hati bagian *abdomen* dan isinya, hingga terlihat bagian mesonephros. Ambil dengan pinset tajam, usahakan gonad dapat terambil dan tidak sampai terpotong. Gonad hasil pemanenan disimpan di dalam tabung *ependorf* 1,5 ml yang telah diisi dengan 500  $\mu$ l larutan PBS (-). Selanjutnya PGC dimurnikan berdasarkan metode Nakajima et al. (2011). Hasil dari pemurnian didapatkan koleksi PGC-gonad segar sebagai PGC yang akan ditransfer ke embrio resipien.

## Transfer *Primordial Germ Cell* ke embrio resipien

Metode transfer PGC donor, yaitu embrio resipien ditransfer dengan donor PGC-gonad segar (25, 50, dan 100 sel), masing-masing perlakuan diulang sebanyak 10 kali. Satu perlakuan kontrol dilakukan sebagai pembanding. Khusus untuk perlakuan kontrol, seluruh darah dari embrio resipien diambil melalui *aorta dorsalis* dengan menggunakan mikropipet, kemudian darah embrio tersebut diinjeksikan kembali ke titik yang sama. Kriteria dari embrio resipien yang akan digunakan adalah embrio harus normal, pembuluh darah terlihat jelas, kuning telur besar dan tidak pecah, serta sudah ada mata, jantung, hati, telinga, dan amnion (Kostaman et al. 2014). Tahapan transfer donor PGC-gonad segar ke embrio resipien dilakukan berdasarkan metode sebagai berikut

1. Kerabang telur resipien yang tumpul dibuat lubang kecil. Selanjutnya telur dibalik, sehingga bagian kerabang yang tumpul ada di bawah dan bagian kerabang yang runcing ada di atas.
2. Bagian kerabang yang runcing kemudian dibuat lubang diameter 1,5 cm, sehingga embrio terlihat jelas dengan tujuan untuk memudahkan manipulasi embrio karena pada bagian kerabang telur yang runcing adalah tempat jatuhnya posisi embrio.

3. Kemudian di bawah mikroskop, seluruh darah dari embrio resipien diambil melalui *aorta dorsalis* dengan menggunakan mikropipet. Kemudian melalui titik yang sama diinjeksi dengan PGC ayam donor yang telah disiapkan ke embrio resipien.
4. Lubang dari telur resipien ditutup dengan *parafilm* dan direkatkan dengan menggunakan albumin telur.
5. Telur embrio resipien selanjutnya diinkubasi pada suhu 38°C dengan kelembaban 60% dan diputar 90° setiap 30 menit menggunakan inkubator portabel (P-008B Biotype; Showa Furanki, Saitama, Jepang) selama 21 hari.
6. Khusus untuk perlakuan kontrol, seluruh darah dari embrio resipien diambil melalui *aorta dorsalis* dengan menggunakan mikropipet, kemudian darah embrio tersebut diinjeksikan kembali melalui titik yang sama.

### **Pengamatan perkembangan embrio resipien**

Kriteria yang digunakan untuk mengetahui embrio donor yang ditransfer ke embrio resipien yang dikatakan masih hidup dan berkembang secara normal di bawah mikroskop adalah sebagai berikut (Kostaman et al. 2014)

1. Embrio umur 4 sampai 7 hari, yaitu dengan melihat denyut jantungnya, dan mulai ada perkembangan organ seperti mata, paruhnya sudah terlihat seperti bintik gelap pada dasar mata, sudah mulai terbentuk otak, leher, dan jengger.
2. Embrio umur 10 sampai 14 hari, yaitu dengan melihat denyut jantung, paruh mulai keras dan folikel bulu embrio mulai terbentuk, punggung telah tampak meringkuk atau melengkung. Sementara bulu hampir menutupi seluruh tubuhnya.
3. Embrio umur 17 sampai 20 hari, yaitu dengan melihat denyut jantung, embrio sudah tampak jelas seperti ayam, akan mempersiapkan diri untuk menetas. Jari kaki, sayap dan bulunya berkembang dengan baik. Embrio ayam ini hampir menempati seluruh rongga di dalam telur.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Perkembangan embrio resipien hasil transfer PGC-gonad donor**

Perkembangan embrio diamati secara berkelanjutan pada seluruh perlakuan (25, 50, dan 100 sel) dan kontrol pada umur inkubasi 4 sampai 21 hari masa inkubasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perkembangan embrio yang diamati setiap periode pada perlakuan 25, 50, dan 100 sel menunjukkan perkembangan yang sangat bagus karena sampai umur inkubasi 4 hari, yaitu sel

PGC yang disuntikkan masih mampu bertahan hidup di embrio resipien sebesar 100% (Tabel 1). Demikian juga dengan perlakuan kontrol, yaitu perkembangan embrio pada umur inkubasi 4 hari masih bertahan hidup sebesar 100%. Hal ini menunjukkan bahwa embrio untuk seluruh perlakuan dan kontrol sudah dapat melalui periode kritis pertama (Sukra 2000).

**Tabel 1.** Perkembangan embrio resipien WL hasil transfer PGC-gonad donor ayam KUB

Jumlah PGC (sel)	Jumlah sampel (N)	Perkembangan embrio sampai hari ke-						Menetas (%)
		4	7	10	14	17	20	
(%)								
Gonad:								
	25	10 (100)	6 (60)	4 (40)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	50	10 (100)	10 (100)	7 (70)	6 (60)	3 (30)	2 (20)	2 (20)
	100	10 (100)	10 (100)	8 (80)	7 (70)	5 (50)	4 (40)	4 (40)
Kontrol:								
		10 (100)	8 (80)	7 (70)	7 (70)	6 (60)	5 (50)	5 (50)

Selanjutnya pada pengamatan perkembangan embrio pada umur 7 hari inkubasi, hasil yang bagus diperlihatkan oleh perlakuan transfer sel PGC sebanyak 50 dan 100 sel yang menunjukkan perkembangan embrio resipien hidup dan berkembang sebesar 100%. Hal ini tidak diikuti oleh pertumbuhan embrio pada perlakuan transfer sel sebanyak 25 sel yang mengalami kematian embrio sangat besar, yaitu 40%, sehingga embrio yang bertahan hidup sebesar 60%. Perlakuan kontrol mengalami penurunan sebesar 20%, sehingga embrio yang masih hidup dan bertahan sebesar 80%. Mulyantini (2014) menyatakan bahwa kematian embrio selama seminggu pertama inkubasi diduga adanya efek fisiologi dan cekaman suhu.

Pengamatan perkembangan embrio sampai umur 10 hari inkubasi, perlakuan transfer sel PGC sebanyak 25, 50, 100 sel, dan kontrol menunjukkan perkembangan embrio resipien mampu hidup dan berkembang masing-masing sebesar 40, 70, 80, dan 80% yang berarti telah terjadi kematian embrio yang tinggi pada perlakuan 25 dan 50 sel. Sesuai pendapat Sukra (2000) bahwa kematian embrio hari ke-10 termasuk periode kritis kedua. Faktor yang menyebabkan kematian embrio pada periode ini ada hubungannya dengan gangguan penarikan kantung kuning telur ke dalam rongga *abdomen*. Pada hari ke-10 ini makanan embrio berasal dari sebagian besar albumen dan sebagian kecil dari kuning telur, sehingga apabila ada gangguan dari penarikan kuning telur embrio akan kekurangan makanan karena kecukupan nutrisi untuk embrio tidak bisa apabila hanya mengandalkan dari albumen. Secara umum seluruh perlakuan dan kontrol

berhasil melewati periode kritis kedua yang ditandai persentase embrio hidup dan berkembang masih di atas 50% kecuali untuk perlakuan transfer 25 sel.

Pada hari ke-14 kematian embrio terjadi pada perlakuan 25 sel yang hanya mampu bertahan hidup 10%, perlakuan 50 sel mampu bertahan hidup sebesar 60%, dan perlakuan 100 sel dan kontrol bertahan hidup masih bagus, yaitu masing-masing 70%. Periode ini merupakan periode kritis bagi perlakuan 25 sel. Kuning telur merupakan makanan utama bagi embrio, dan sebagian kecil berasal dari albumin. Jika terjadi gangguan yang terus menerus pada proses penarikan kantung kuning telur ke dalam rongga *abdomen*, maka embrio akan mati akibat kekurangan makanan (Sukra 2000). Kuning telur mengandung protein berupa LDL, HDL, fosvitin, livetin, dan protein lainnya. LDL atau *low density lipoprotein* merupakan protein mayor pada kuning telur, yakni 65% dari total protein yang ada. Lemak yang berada dalam kuning telur adalah trigliserida, fosfolipid, sterol, dan cerebrosida (Yuwanta 2010).

Pada hari ke-17 perkembangan embrio yang mendapat perlakuan transfer donor 25 sel semuanya mati. Untuk perlakuan embrio resipien yang ditransfer dengan PGC-gonad segar sebanyak 50 sel mengalami juga kematian dan bertahan hidup tinggal 30%, demikian juga dengan perlakuan transfer 100 sel masih bertahan hidup pada 50%. Perlakuan kontrol masih bertahan hidup pada 60%. Perkembangan embrio pada hari ke-20 menunjukkan hasil bahwa untuk perlakuan embrio resipien yang ditransfer dengan PGC-gonad segar sebanyak 50 sel dan 100 masih bertahan hidup sebesar 20% dan 40%. Pada perlakuan kontrol terjadi penurunan 10%, sehingga masih bertahan hidup pada 50%.

Mulyantini (2014) mengemukakan bahwa tiga hari terakhir masa inkubasi merupakan persentase kematian embrio paling tinggi, hal ini ada hubungannya dengan waktu dan posisi embrio, di mana paruh belum memutar ke rongga udara sehingga embrio akan kekurangan oksigen. Juga disebutkan Feng et al. (2006) bahwa perkembangan embrio di inkubator pada fase akhir lebih rentan terhadap perubahan lingkungan eksternal. Hal ini ada hubungannya dengan proses-proses fisiologi selama perkembangan. Selanjutnya dikemukakan juga bahwa masa kritis hari ke-20 juga terjadi dikarenakan embrio mengalami perubahan yang sangat cepat untuk menjadi anak ayam. Beberapa organ tubuh mulai tumbuh sempurna, sehingga cukup peka terhadap perubahan suhu udara luar. Vitelina mulai masuk ke rongga embrio, umbilicus menutup. Terjadi gerakan memutar menuju rongga udara karena embrio mulai bernafas menggunakan oksigen. Periode penetasan mengalami masa kritis pada awal masa pengeraman saat terjadi perkembangan sistem peredaran darah, sedangkan pada masa akhir pengeraman saat terjadi perubahan fisiologis dari sistem pernafasan allantois menjadi gelembung pernafasan (udara).

Pada hari ke-20 kantung kuning telur sudah masuk sepenuhnya ke dalam rongga *abdomen*. Embrio ayam ini hampir menempati seluruh rongga di dalam telur. Pada periode ini terjadi serangkaian proses penetasan yang diawali dengan

kerabang mulai terbuka dengan cara ayam menggunakan paruhnya dengan cara mematuk (*pipping*). Selanjutnya kerabang akan semakin besar membuka, sehingga ayam dapat bernafas, ayam memutar tubuhnya dengan bantuan dorongan kakinya. Dengan bantuan sayapnya, pecahnya kerabang semakin besar. Pada penelitian ini terjadi anak ayam tidak berhasil mematuk kerabang (*pipping*) sehingga kerabang tidak dapat terbuka yang menyebabkan anak ayam mati. Pada hari ke-21, ayam sudah membuka kerabangnya walaupun belum seluruhnya. Dari keadaan ini biasanya tubuh ayam memerlukan waktu beberapa jam untuk keluar dari kerabang. Setelah keluar dari kerabang, tubuh masih basah. Supaya kering, diperlukan waktu beberapa jam lagi. Selanjutnya embrio yang berhasil menetas, sebagian mampu bertahan hidup dan sebagian lagi mengalami kematian karena beberapa faktor seperti faktor teknis manajemen dan lemah kondisi fisiknya.

Secara keseluruhan, maka donor PGC-gonad memperlihatkan hasil yang baik, yaitu embrio yang berhasil menetas setelah masa inkubasi 21 hari pada masing-masing perlakuan 50 dan 100, yaitu 20% dan 40%. Hal ini diduga bahwa PGC-gonad mempunyai kualitas dalam hal bertahan hidup dan berkembang yang lebih baik dibandingkan dengan PGC-sirkulasi. Pada perlakuan kontrol, hasil yang bertahan hidup adalah 50%. Hal ini karena pengaruh perlakuan pengambilan darah embrio dan penyuntikan kembali meskipun tidak dilakukan transfer donor PGC. Sesuai dengan pendapat Chang et al. (1997) bahwa penurunan tingkat keberhasilan penetasan pada embrio yang dimanipulasi menunjukkan bahwa perlakuan penyuntikan berpengaruh terhadap perkembangan embrio.

Hasil ini juga lebih tinggi bila dibandingkan pada pembentukan *germline chimera* pada ayam Gaok di mana hasil yang diperoleh untuk masing-masing perlakuan 50 dan 100 sel adalah 10% (Kostaman et al. 2014). Periode kritis bagi masing-masing donor PGC-sirkulasi dan PGC-gonad pada perlakuan transfer 25 sel adalah periode ketiga, yaitu embrio selanjutnya tidak bisa bertahan hidup. Saat pertumbuhan embrio, adanya saat-saat tertentu yang merupakan masa kritis kehidupan embrio, di mana masa kritis itu berdasarkan persentase kematian embrio terbesar. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa masa kritis bagi masing-masing perkembangan embrio untuk perlakuan 50 dan 100 sel adalah pada hari ke-10. Hasil ini hampir sama dengan yang dilaporkan Kostaman et al. (2014) pada pembentukan *germline chimera* ayam Gaok.

## KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa *germline chimera* dapat dihasilkan dengan cara mentransfer donor PGC ke embrio resipien dengan tingkat keberhasilan yang dipengaruhi oleh jumlah sel donor PGC yang ditransferkan, di mana semakin banyak jumlah sel donor PGC yang ditransferkan maka semakin tinggi tingkat keberhasilan penetasan yang diperoleh. Masa kritis untuk



perkembangan embrio yang ditransfer dengan PGC-gonad sebanyak 25, 50, dan 100 sel adalah hari ke-10 dengan jumlah keseluruhan embrio resipien yang menetas dari transfer PGC donor, yaitu 60%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Chang IK, Jeong DK, Hong YH, Park TS, Moon TK, Ohno T, Han JY. 1997. Production of germline chimeric chicken by transfer of cultured primordial germ cells. *Cell Biol Int.* 21:495-499.
- Ensminger ME, Brant G, Colin GS. 2004. *Poultry Science*. 4<sup>th</sup> ed. Upper Saddle River (USA): Pearson Prentice Hall, United States America.
- Feng YP, Gong YZ, Nabeel AA, Peng XL, Yuan JF, Zhao R. 2006. Analysis of the offspring sex ratio of chicken by using molecular sexing. *Agric Sci Chin.* 5:545-549.
- Furuta H. 2012. Establishing germline chimeric chickens using primordial germ cells. *J Poult Sci.* 49:1-4.
- Kostaman T, Yusuf TL, Fahrudin M, Setiadi MA, Setioko AR. 2014. Pembentukan *germline chimera* ayam Gaok menggunakan *primordial germ cell* sirkulasi segar dan beku. *JITV.* 19:17-25.
- Mulyantini NGA. 2014. *Ilmu Manajemen Ternak Unggas*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Nakajima Y, Minematsu T, Naito M, Tajima A. 2011. A new method for isolation viable gonadal germ cells from 7-day-old chick embryos. *J Poult Sci.* 48:106-111.
- Sopiyana S, Supriatna I, Setiadi MA, Fahrudin M. 2016. Determination of production capacity of circulated primordial germ cells (Circulated-PGCs) of KUB Chicken using Lysis Buffer Ammonium Chloride Potassium (ACK). *Indonesian J Anim Vet Sci.* 21(1).
- Sopiyana S, MA Setiadi, M Fahrudin, I Supriatna. 2017. Isolation and number of gonadal primordial germ cells (Gonadal PGCs) on the stages of early embryonic development of Indonesian KUB Chicken. *J-Media Peternakan.* 40(1).
- Sukra. 2000. *Wawasan ilmu pengetahuan embrio: Benih masa depan*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta (ID): Departemen Pendidikan Nasional.
- Tajima A, Barbato GF, Kuwana T, Hammerstedt RH. 2003. Conservation of a genetically selected broiler line (42L) using cryopreserved circulating primordial germ cells (PGCs) isolated by filtration method. *J Poult Sci.* 40:53-61.
- Tajima A, Minematsu T, Ohara M. 2004. Production of germline chimeras by transfer of cryopreserved gonadal germ cells collected from 7- and 9-day-old chick embryos. *Anim Sci J.* 75:85-88.
- Yuwanta T. 2010. *Telur dan Kualitas Telur*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.

## DISKUSI

### Pertanyaan

1. *Penelitian yang menarik, mengapa tidak coba ke entok pak. karena penetasan entok secara besar-besaran belum tercapai.*

### Jawaban:

1. *Penelitian ini merupakan penelitian konservasi sumber daya genetik terutama untuk yang akan punah atau menjelang kepunahan. Saat ini penelitian telah dilakukan pada unggas, yaitu ayam dan tidak menutup kemungkinan kedepannya dilakukan pada itik dan entok. Pada prinsipnya kegiatan pada entok dapat dilakukan.*