

Performa benih ikan nila diberi pakan mengandung hormon pertumbuhan rekombinan ikan mas dengan dosis berbeda

Performance of Nile tilapia juvenile fed diet containing different dosages of recombinant common carp growth hormone

Dian Hardiantho*¹, Alimuddin², Arief Eko Prasetyo¹, Dwi Hany Yanti¹,
Komar Sumantadinata²

¹ Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar, Sukabumi, Jawa Barat.
Jl. Selabintana No. 37 Sukabumi 43114

² Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680
*email: dianhards37@gmail.com

ABSTRACT

The study was conducted to determine the dose of recombinant common carp growth hormone (rCcGH) supplemented in the commercial diet that generates the best performance on body weight, biomass, and feed conversion rate of juvenile tilapia. The dose of rCcGH administered was 10, 20, and 30 mg/kg of commercial feed, and no rGH supplementation as control. Each treatment was designed in triplicates. Juveniles at average body length of about 2 cm (average body weight of 0.7 g) were reared in a density of 25 fish/m², for three weeks in hapa net at a size of 2×2×1 m³. Fish were fed diet containing rCcGH twice a week with an interval of three days. The juvenile were fed with the rCcGH supplemented diet three times daily at satiation. The results showed that average body weight and biomass of fish treated by rCcGH with the doses of 20 and 30 mg/kg feed was higher ($p < 0.05$) than that of 10 mg/kg and control. In addition, feed conversion rate of 20 and 30 mg/kg feed treatments was lower ($p < 0.05$) than that of 10 mg/kg and control. RT-PCR analysis showed that expression level of IGF-1 gene in juvenile liver was increased in parallel with the increasing of rCcGH dosages supplemented in diet. This suggested that IGF-1 plays an important role in the induction of growth, and feed conversion efficiency of tilapia fed diet containing rCcGH. The best performance of juvenile can be obtained by feeding with diet containing rCcGH 20–30 mg/kg of feed.

Keywords: rCcGH, IGF-I, recombinant growth hormone, performance, Nile tilapia.

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan dosis hormon pertumbuhan rekombinan (rGH) ikan mas (rCcGH) dalam pakan buatan yang memberikan performa terbaik pada bobot tubuh, biomassa, dan konversi pakan benih ikan nila. Dosis rCcGH yang diberikan adalah 10, 20, dan 30 mg/kg pakan buatan, serta pakan buatan tidak mengandung rGH sebagai kontrol. Setiap perlakuan dilakukan ulangan tiga kali. Benih ikan nila berukuran panjang tubuh rerata 2 cm (rerata bobot tubuh 0,7 g) dipelihara pada kepadatan 25 ekor/m², selama tiga minggu pada hapa berukuran 2×2×1 m³. Ikan diberi pakan mengandung rGH frekuensi dua kali seminggu dengan selang waktu tiga hari. Pemberian pakan dilakukan tiga kali sehari sampai kenyang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bobot rerata dan peningkatan biomassa ikan perlakuan dosis rCcGH 20 dan 30 mg/kg pakan lebih tinggi ($p < 0,05$) daripada perlakuan lainnya termasuk kontrol. Selanjutnya, tingkat konversi pakan ikan perlakuan rCcGH 20 dan 30 mg/kg pakan lebih rendah daripada perlakuan 10 mg/kg, dan kontrol. Analisis RT-PCR menunjukkan bahwa ekspresi gen *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada hati ikan meningkat sejalan dengan peningkatan dosis rGH dalam pakan. Hal ini menunjukkan bahwa IGF-1 berperan penting dalam induksi pertumbuhan dan efisiensi konversi pakan ikan nila yang diberi rGH. Performa terbaik benih ikan nila diperoleh pada pemberian pakan mengandung rGH 20–30 mg/kg pakan.

Kata kunci: rCcGH, IGF-1, hormon pertumbuhan rekombinan, performa, ikan nila.

PENDAHULUAN

Pertumbuhan merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan usaha budidaya

perikanan. Pertumbuhan yang lambat akan menyebabkan lamanya waktu pemeliharaan dan besarnya biaya yang harus dikeluarkan. Lama waktu pemeliharaan juga akan

meningkatkan risiko pemeliharaan ikan, seperti serangan penyakit. Berbagai upaya telah dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan ikan seperti seleksi, hibridisasi, triploidisasi, dan transgenesis. Namun demikian, upaya-upaya tersebut terhalang dengan waktu yang relatif lama untuk mendapatkan perbaikan kualitas ikan secara signifikan. Aplikasi metode seleksi membutuhkan waktu sekitar sepuluh tahun untuk menghasilkan 12 generasi dengan kecepatan tumbuh 12,4% per generasi pada ikan nila (Bolivar *et al.*, 2002). Aplikasi teknologi transgenesis menghasilkan laju pertumbuhan 30 kali lebih cepat (Nam *et al.*, 2001), tetapi verifikasi individu yang positif transgenik tetap membutuhkan waktu yang tidak sebentar. Penerapan teknologi hibridisasi dan triploidisasi masih terbatas untuk ikan yang teknik pemijahan buaatannya telah dikuasai dengan baik.

Penggunaan hormon pertumbuhan rekombinan (rGH) untuk mempercepat pertumbuhan ikan sudah banyak dilakukan dengan berbagai metode. Pemberian rGH pada ikan *rainbow trout* dapat meningkatkan pertumbuhan sebesar 50% dibandingkan dengan ikan *rainbow trout* yang tidak diberi perlakuan rGH (Sekine *et al.*, 1985). Menurut Funkenstein *et al.* (2005) pemberian rGH sebesar 0,5 µg/g bobot tubuh dengan frekuensi sekali seminggu selama empat minggu pada ikan beronang meningkatkan bobot tubuh sebesar 20% dibandingkan kontrol. Pemberian rGH ikan mas sebesar 0,1 µg/g bobot tubuh pada benih ikan nila dapat meningkatkan bobot tubuh sebesar 53,1% dibandingkan dengan kontrol (Li *et al.*, 2003). Lesmana (2010) melaporkan bahwa pemberian rGH yang berasal dari ikan berbeda pada ikan nila melalui teknik penyuntikan atau injeksi dapat meningkatkan bobot 20,94% (rGH ikan kerapu kertang), 18,09% (rGH ikan mas), dan 16,99% (rGH ikan gurami). Pada penelitian ini dilakukan uji bioaktivitas untuk menentukan dosis rGH ikan mas melalui pakan buatan pada benih ikan nila yang menghasilkan performa terbaik. Aplikasi rGH melalui pakan digunakan pada penelitian ini dikarenakan lebih aplikatif, praktis, dan mengurangi risiko timbulnya stres pada ikan. Keberhasilan

penerapan teknologi ini diharapkan mampu meningkatkan efisiensi produksi pada usaha budidaya ikan nila.

BAHAN DAN METODE

Produksi protein rGH

Produksi protein rGH ikan mas dilakukan seperti dijelaskan Alimuddin *et al.* (2011). Bakteri *Escherichia coli* BL21 yang membawa vektor ekspresi protein rGH ikan mas diinkubasi dalam media 2×YT pada suhu 15 °C, dan dikocok selama semalam. Sintesis protein diinduksi dengan menambahkan 1 mM *isopropyl-b-D-thiogalac-Topyranoside* (IPTG) ke dalam media kultur bakteri. Dinding sel bakteri dilisis menggunakan lisozim 10 mg/mL tris-EDTA selama 20 menit. Total protein bakteri dalam bentuk badan inklusi (*inclusion body*) diendapkan menggunakan sentrifugasi pada suhu 4 °C, dan kecepatan 12.000 rpm selama lima menit, dan selanjutnya protein dilarutkan dengan *phosphate buffer saline* (PBS). Keberadaan rGH dalam badan inklusi dianalisis menggunakan metode SDS-PAGE (Alimuddin *et al.*, 2011). Protein disimpan dalam *deep freezer* -80 °C hingga digunakan.

Pembuatan dan pemberian pakan mengandung rGH

Dosis rCcGH yang diuji dalam penelitian ini adalah 10, 20 dan 30 mg/kg pakan. Badan inklusi mengandung rCcGH sebanyak 1 mg, 2 mg dan 3 mg (berat basah) dilarutkan dalam 15 mL PBS, dan dicampur dengan 2 mg kuning telur ayam yang berfungsi sebagai bahan pengikat (*binder*) pada pakan buatan. Setelah dihomogenasi menggunakan vorteks, campuran kuning telur dan rGH disemprotkan secara merata pada 100 g pakan komersial (kadar protein 31%), kemudian dibiarkan kering udara sebelum diberikan pada ikan nila. Sebagai pakan kontrol, pakan dicampur dengan 2 mg kuning telur ayam tanpa penambahan rGH.

Benih ikan nila berukuran panjang tubuh rerata 2 cm dipelihara selama tiga minggu dalam hapa ukuran 2×2×1 m³ dengan kepadatan 25 ekor/m². Pada penelitian ini ikan diberi pakan mengandung rGH sebanyak dua kali seminggu dengan selang

waktu tiga hari. Sebagai kontrol ikan diberi pakan tanpa rGH (pakan kontrol). Pemberian pakan dilakukan tiga kali sehari sampai kenyang. Setiap perlakuan diberi ulangan sebanyak tiga kali. Bobot dan panjang tubuh ikan diukur setiap minggu sebanyak 30 ekor pada setiap ulangan. Kelangsungan hidup ikan dihitung pada akhir penelitian.

Analisis ekspresi *insulin-like growth factor-1*

Analisis ekspresi gen *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) dilakukan untuk menjelaskan mekanisme yang melibatkan rGH dalam induksi pertumbuhan ikan. IGF-1 diekspresikan di hati. Hati ikan nila perlakuan rGH dan kontrol diambil pada akhir penelitian masing-masing sebanyak tiga ekor yang diambil secara acak dari setiap perlakuan. RNA total diekstraksi dari hati menggunakan kit *RNAspin mini RNA isolation* (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). cDNA disintesis dari 1 μ L RNA total menggunakan kit *One step-RT PCR* (Qiagen, Doncaster, Australia). Ekspresi IGF-1 ikan nila dianalisis menggunakan metode PCR menggunakan primer forward IGF-1 (5'-ACCATGCGCTGTCTC-CCGAGTACC-3') dan reverse IGF-1 (5'-CACACAACTGCAGCGTGTCTACAAGCTCC-3'). Primer tersebut disusun menggunakan program *GENETYX* versi 7, dengan panjang fragmen gen IGF-1 target sekitar 124 bp.

Proses PCR dilakukan dengan program pembalikan transkripsi (*reverse transcription*) selama 32 menit pada suhu 50 °C, dilanjutkan dengan denaturasi awal selama 15 menit pada suhu 95 °C, diikuti oleh 35 siklus amplifikasi pada denaturasi 94 °C selama 20 detik, *annealing* pada suhu 65 °C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 30 detik, serta ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama sepuluh menit. Sebagai kontrol internal *loading* RNA pada saat sintesis cDNA, dilakukan analisis ekspresi gen β -aktin ikan nila menggunakan primer forward (5'-GTGCC-ATCTACGAGGGTTA-3') dan reverse (5'-TTTGATGTCACGCACGATTT-3') (Kobayashi *et al.*, 2007). Sebanyak 3 μ l produk PCR dielektroforesis pada 1% gel

agarosa dan DNA divisualisasi menggunakan *GelRed* (Biotium Inc., California, USA). Kuantifikasi ekspresi gen dilakukan secara semi-kuantitatif, yaitu dengan membandingkan intensitas ketebalan pita DNA produk PCR untuk gen IGF-1 dan β -aktin ikan nila menggunakan *Gel Doc XR+* dan program *Quantity One* (Biorad Inc., California, USA).

Analisis statistik

Efektivitas dosis rGH dalam pakan buatan ditentukan berdasarkan parameter bobot tubuh ikan pada akhir penelitian, biomassa, konversi pakan (*feed conversion ratio/FCR*), tingkat kelangsungan hidup, dan ekspresi gen IGF-1. Data dianalisis menggunakan metode sidik ragam (ANOVA) dan diuji lanjut Duncan's dengan bantuan program SPSS 13.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

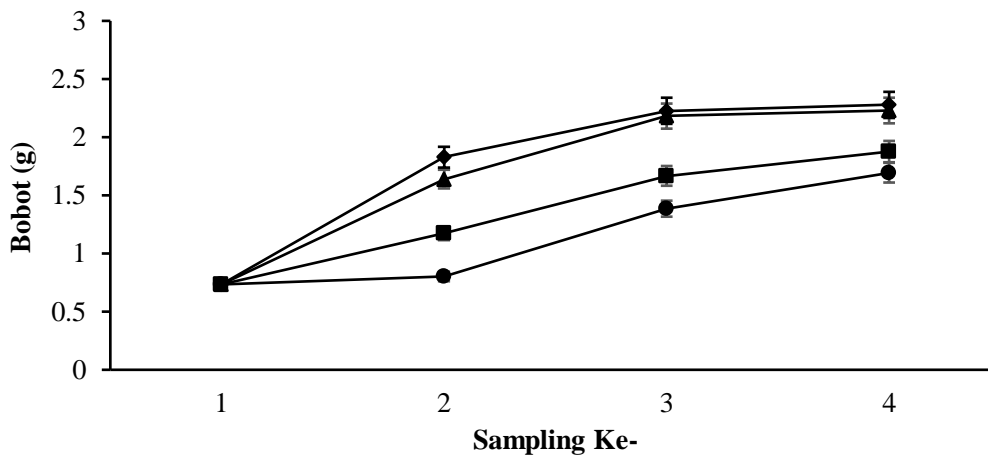
Pemberian rGH ikan mas melalui pakan dapat meningkatkan bobot tubuh benih ikan nila (Tabel 1). Bobot tubuh ikan perlakuan rGH dosis 20 dan 30 mg/kg pakan adalah lebih tinggi 32–35% dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Selanjutnya, laju pertumbuhan bobot ikan perlakuan rGH dosis 20 dan 30 mg/kg pakan dari minggu kedua ke minggu ketiga menjadi mendatar, sedangkan pada perlakuan rGH 10 mg/kg pakan dan kontrol terlihat masih mengalami peningkatan (Gambar 1). Hal ini mengindikasikan bahwa pada kondisi penelitian ini, kapasitas wadah pemeliharaan ikan telah membatasi kecepatan tumbuh ikan perlakuan rGH dosis 20 dan 30 mg/kg pakan.

Kelangsungan hidup ikan perlakuan rCcGH lebih tinggi ($p < 0,05$) daripada kontrol (Tabel 1). Biomassa merupakan bobot total dari ikan yang hidup hingga akhir penelitian. Rerata bobot tubuh individu ikan pada kepadatan rendah (akibat kelangsungan hidup rendah) dapat lebih besar dibandingkan yang dipelihara dengan kepadatan ikan tinggi. Dengan demikian, peningkatan biomassa tubuh ikan perlakuan rCcGH dosis 20 dan 30 mg/kg pakan adalah efek dari pemberian rCcGH. Peningkatan kelangsungan hidup ikan perlakuan rCcGH

Tabel 1. Konsumsi pakan, kelangsungan hidup, bobot tubuh, biomasa, dan tingkat konversi pakan ikan nila yang diberikan pakan mengandung hormon pertumbuhan rekombinan ikan mas (rCcGH) dengan dosis berbeda, dan kontrol yang tidak diberi rGH.

Perlakuan dosis (mg rCcGH per kg pakan)	Konsumsi pakan (g)		Total konsumsi pakan (g)	Kelangsungan hidup (%)	Bobot tubuh (g)	Perubahan biomassa (g)	Tingkat konversi pakan
	Pakan tanpa rGH	Pakan dengan rGH					
0 (kontrol)	47,02±0,63 ^a	-	47,02±0,06 ^a	72,72±11,02 ^c	1,69±0,35 ^b	47,45±5,01 ^c	1,00±0,10 ^a
10	20,72±0,06 ^b	7±0,00 ^a	27,72±0,06 ^b	90,00±4,00 ^b	1,87±0,25 ^b	96,19±29,92 ^b	0,31±0,08 ^b
20	19,98±0,06 ^c	7±0,00 ^a	26,98±0,06 ^c	90,00±2,52 ^b	2,23±0,09 ^a	143,56±4,20 ^a	0,19±0,01 ^c
30	20,31±0,06 ^b	7±0,00 ^a	27,31±0,06 ^b	97,33±2,52 ^a	2,28±0,15 ^a	149,33±10,43 ^a	0,18±0,02 ^c

Keterangan: nilai dinyatakan dalam rata-rata (\pm) simpangan baku dari tiga ulangan. Ekspresi gen *insulin-like growth factor I* (IGF-I) merupakan nilai relatif terhadap ekspresi gen β -aktin sebagai kontrol internal. Huruf superskrip yang sama di belakang nilai simpangan baku pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($p < 0,05$).



Gambar 1. Pertumbuhan bobot tubuh benih ikan nila yang diberi pakan mengandung hormon pertumbuhan rekombinan ikan mas (rCcGH) dengan dosis berbeda (10 [—■—], 20 [—▲—], dan 30 [—◆—] mg/kg pakan), dan kontrol (—●—) yang tidak diberi rCcGH.

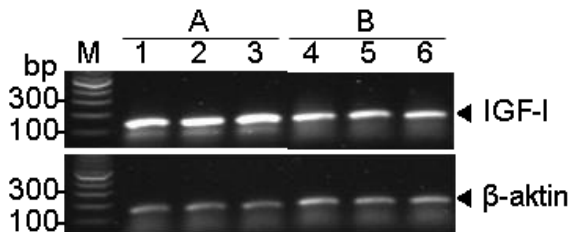
10 mg/kg pakan *versus* kontrol adalah 24%, sedangkan pada dosis 20 mg dan 30 mg/kg. pakan *versus* kontrol adalah 34%. Sejalan dengan peningkatan bobot tubuh dan kelangsungan hidup ikan perlakuan rGH, diperoleh peningkatan biomassa ikan perlakuan rCcGH dosis 10 mg/kg pakan adalah sekitar dua kali lipat daripada kontrol, sedangkan pada 20 dan 30 mg/kg pakan *versus* kontrol adalah sekitar tiga kali lebih tinggi daripada kontrol.

Total konsumsi pakan pada ikan perlakuan rCcGH sekitar 26–30% lebih rendah ($p < 0,05$) daripada kontrol (Tabel 1). Selanjutnya, pertambahan biomassa ikan perlakuan rCcGH dosis 20 dan 30 mg/kg pakan lebih tinggi ($p < 0,05$) daripada perlakuan lain dan kontrol, sehingga konversi pakan ikan perlakuan 20 dan 30 mg/kg lebih rendah daripada perlakuan lain dan kontrol. Konversi pakan pada perlakuan rCcGH dosis

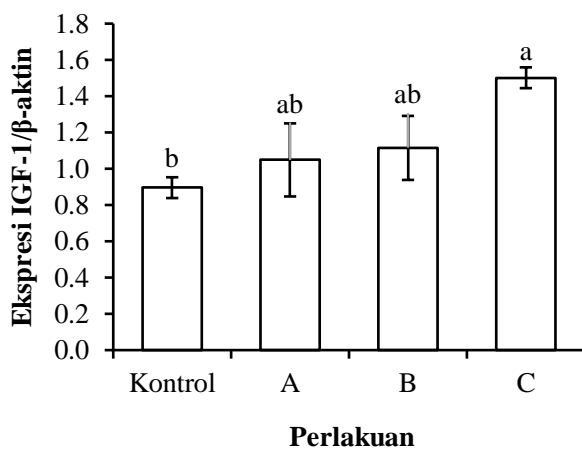
20 dan 30 mg/kg pakan adalah sekitar 70% lebih rendah dibandingkan dengan konversi pakan ikan kontrol. Biaya produksi ikan budidaya didominasi oleh biaya pakan, sehingga perbaikan konversi pakan sangat berpotensi menurunkan biaya produksi. Hal ini menambah daya tarik penggunaan rGH dalam budidaya ikan nila.

Ekspresi gen IGF-1 pada perlakuan dosis rCcGH 30 mg/kg pakan sama dengan perlakuan lainnya, dan lebih tinggi ($p < 0,05$) daripada kontrol (Gambar 2). Selanjutnya, ada kecenderungan bahwa ekspresi IGF-1 meningkat dengan meningkatnya dosis perlakuan rGH ($p > 0,05$). Hal ini memperkuat hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan keterkaitan IGF-1 dengan rGH dalam induksi pertumbuhan benih ikan nila. Peningkatan ekspresi IGF-1 akibat perlakuan rGH juga telah dilaporkan pada ikan salmon (Moriyama *et al.*, 2000), ikan ekor kuning

(*Seriola quinqueradiata*) (Pedroso *et al.*, 2009), dan ikan sidat Handoyo (2012). Mekanisme GH dalam memengaruhi pertumbuhan adalah dimediasi oleh IGF-1 dalam hati ikan (Moriyama *et al.*, 2000).



(a)



(b)

Gambar 2. Ekspresi (a), dan kuantifikasi tingkat ekspresi gen *insulin-like growth factor-1* (IGF-1; 125 bp) (b) relatif terhadap ekspresi gen β -aktin di hati ikan nila yang telah diberi pakan mengandung hormon pertumbuhan rekombinan ikan mas rCcGH (A) dan yang diberi pakan kontrol tanpa rCcGH (B). Nomor satu sampai dengan enam merupakan nomor individu ikan nila uji. M adalah marka panjang fragmen DNA. Angka di sebelah kiri gambar atas merupakan ukuran panjang DNA. Huruf berbeda di atas garis simpangan baku menunjukkan perbedaan secara statistik ($p < 0,05$).

Tingkat produksi budidaya dipengaruhi oleh performansi benih ikan yang ditebar. Pada penelitian ini digunakan rGH untuk meningkatkan performansi benih ikan nila. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian rGH melalui pakan buatan dengan dosis 20–30 mg/kg pakan dapat meningkatkan pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan biomassa benih ikan nila (Tabel 1). Tingkat produksi (biomassa) ikan perlakuan rGH adalah dua hingga tiga kali lipat dibandingkan dengan tanpa pemberian rGH. Dengan demikian, rGH dapat diberikan

melalui pakan buatan untuk meningkatkan performansi benih ikan nila. Peningkatan performansi ikan yang diberi perlakuan rCcGH didukung oleh peningkatan ekspresi gen IGF-1, khususnya perlakuan dosis 30 mg/kg pakan. Ekspresi gen IGF-1 yang terkait kuat dengan kecepatan pertumbuhan ikan juga telah dilaporkan oleh Moriyama *et al.* (1990).

Pemberian rCcGH melalui pakan buatan merupakan metode praktis untuk diterapkan pada skala lapang. Pada penelitian sebelumnya, untuk mengurangi kerusakan rGH akibat digesti enzim dan reaksi kimia lainnya dalam organ pencernaan ikan, rGH dicampur dengan HP-55 sebagai penyalut (*coating*) sebelum dicampurkan ke pakan buatan (Promdonkoy *et al.*, 2004). Pada penelitian ini kuning telur ayam digunakan sebagai pelapis rGH. Bahan penyalut rGH yang umum digunakan adalah HP55. Namun demikian, harga HP55 relatif mahal, dan pengadaannya relatif sulit karena diimpor.

Pertumbuhan bobot, dan biomassa benih ikan yang diberi rGH lebih tinggi daripada ikan kontrol. Selain itu, ekspresi gen IGF-1 pada hati ikan yang diberi rGH juga meningkat (Gambar 2). Dengan demikian, kuning telur dapat digunakan sebagai penyalut rCcGH dan diduga dapat meminimalisasi kerusakan rCcGH setelah melewati organ pencernaan. Kadar rGH yang berada dalam peredaran darah setelah melewati organ pencernaan masih perlu diteliti lebih lanjut.

Pemberian pakan dilakukan sampai ikan kenyang. Seperti ditunjukkan pada Tabel 1, total konsumsi pakan pada ikan kontrol lebih tinggi daripada ikan perlakuan rCcGH. Pertumbuhan dan biomassa ikan perlakuan rCcGH lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Dengan demikian, ikan perlakuan rCcGH lebih efisien dalam memanfaatkan pakan. Hal ini sejalan dengan yang dilaporkan pada ikan nila transgenik GH (Kobayashi *et al.*, 2007). Selanjutnya, dengan adanya peningkatan biomassa (produksi) ikan, dan pengurangan biaya produksi budidaya akibat menurunnya biaya pakan, maka aplikasi rGH melalui pakan pada benih ikan nila berpotensi tinggi meningkatkan pendapatan pembudidaya.

Laju pertumbuhan benih ikan nila yang diberi rCcGH dosis 20 dan 30 mg/kg pakan terlihat stagnan pada minggu ketiga pemeliharaan. Pengurangan kepadatan atau pemeliharaan ikan dalam wadah yang lebih luas setelah minggu kedua diduga dapat mendukung peningkatan pertumbuhan benih ikan nila, dan hal ini perlu diteliti lebih lanjut. Selanjutnya, pada penelitian ini pemeliharaan ikan dilakukan hanya selama tiga minggu. Pemeliharaan ikan nila hingga mencapai ukuran konsumsi dapat memberikan informasi tingkat produksi budidaya ikan yang diberi perlakuan rGH dibandingkan dengan yang tidak diberi rGH. Selain itu, pemberian rGH pada pembesaran juga perlu diteliti untuk memperoleh metode terbaik dalam aplikasi rGH melalui pakan buatan.

KESIMPULAN

Pemberian rCcGH melalui pakan dapat meningkatkan performa benih ikan nila dengan pertumbuhan bobot dan kelangsungan hidup tertinggi, serta konversi pakan terendah dicapai melalui pemberian pakan mengandung rCcGH dosis 20–30 mg/kg pakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alimuddin, Lesmana I, Sudrajat AO, Carman O, Faizal I. 2011. Production and bioactivity potential of three recombinant growth hormones of farmed fish. *Indonesian Aquaculture Journal* 5: 11–17.
- Bolivar RB, Gary F, Newkirk. 2002. Response to within family selection for body weight in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* using a single-trait animal model. *Aquaculture* 204: 371–381.
- Funkenstein B, Dyman A, Lapidot Z, de Jesus-Ayson EG, Gertler A, Ayson FG. 2005. Expression and purification of a biologically active recombinant rabbitfish *Siganus guttatus* growth hormone. *Aquaculture* 250: 504–515.
- Handoyo B. 2012. Respons benih ikan sidat terhadap hormon pertumbuhan rekombinan ikan kerapu kertang melalui perendaman dan oral [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kobayashi SI, Alimuddin, Morita T, Miwa M, Lu J, Endo M, Takeuchi T, Yoshizaki G. 2007. Transgenic Nile tilapia *Oreochromis niloticus* over-expressing growth hormone show reduced ammonia excretion. *Aquaculture* 270: 427–435.
- Lesmana I. 2010. Produksi dan bioaktivitas protein rekombinan hormon pertumbuhan dari tiga jenis ikan budidaya [Tesis]. Bogor: Instiut Pertanian Bogor.
- Li Y, Bai J, Jian Q, Ye X, Lao H, Li X, Luo J, Liang X. 2003. Expression of common carp growth hormone in the yeast *Pichia pastoris* and growth stimulation of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 216: 329–341.
- Moriyama S, Kawauchi H. 1990. Growth stimulation of juvenile salmonids by immersion in recombinant salmon growth hormone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 31–34.
- Moriyama S, Felix GA, Hiroshi K. 2000. Growth regulation by insuline-like growth factor-1 in fish. *Biosci Biotechnol. Biochem.* 64: 1553–1562.
- Nam YK, Noh JK, Cho YS, Cho HJ, Cho KN, Kim CG, Kim DS. 2001. Dramatically accelerate growth and extraordinary gigantism of transgenic mud loach *Misgurnus mizolepis*. *Transgenic Research* 10: 353–362.
- Pedroso FL, Fukada H, Masumoto T. 2009. *In vivo* and *in vitro* effect of recombinant salmon growth hormone treatment on IGF-I and IGF-BPs in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fish Sci.* 75: 887–894
- Promdonkoy B, Warit S, Panyim S. 2004. Production of a biologically active growth hormone from giant catfish *Pangasianodon gigas* in *Escherichia coli*. *Biotechnology Letters* 26: 649–653.
- Sekine S, Mizukami T, Nishi T, Kuwana Y, Saito A, Sato M, Itoh S, Kawauchi H. 1985. Cloning and expression of cDNA for salmon growth hormone in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 4306–4310.