

## **PREVALENSI VIRAL NERVOUS NECROSIS (VNN) PADA IKAN KERAPU EKOR BULAN (*Variola sp.*) DI PERAIRAN GORONTALO**

Ahmad Ainul Nurkhozin<sup>1)</sup>, Dewi Shinta Achmad<sup>1\*)</sup>, Nurqadri Syaia Bakti<sup>1)</sup>, Indri Afriani Yasin<sup>1)</sup>, Sitti Rosnany A. Natsir<sup>2)</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Akuakultur, Fakultas Sains dan Ilmu Komputer Universitas Muhammadiyah Gorontalo

Jl. Prof. Dr. H. Mansoer Pateda Desa Pentadio Timur, Kec. Telaga Biru, Kab. Gorontalo

<sup>2</sup> Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Gorontalo  
Jl. Achmad Nadjamudin No.20, Kota Gorontalo

\*e-mail: [dewishintaachmad@umgo.ac.id](mailto:dewishintaachmad@umgo.ac.id)

### **ABSTRAK**

Kerapu (Famili Serranidae) merupakan salah satu inang betanodavirus. Betanodavirus dapat menginfeksi spesies di iklim tropis, subtropis, atau dingin. Hal ini menjadi perhatian utama karena telah dilaporkan menginfeksi berbagai ikan laut, baik ikan budidaya maupun ikan liar. Penyakit yang disebabkan oleh virus ini biasa dikenal dengan Viral Nervous Necrosis (VNN) atau Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER). Penyakit VNN ini ditandai dengan nekrosis vakuolar sel yang ditemukan di otak, retina, dan sumsum tulang belakang, dapat menyebabkan kematian hingga 100% pada larva dan juvenil serta dapat menyebabkan kerugian yang signifikan pada ikan yang lebih tua. Ikan yang terinfeksi, baik yang liar maupun yang dibudidayakan, dapat bertindak sebagai reservoir (tempat bersarang dan berkembang biaknya virus) dan dapat menjadi sumber infeksi bagi spesies yang dibudidayakan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Pengujian VNN pada ikan kerapu dengan mengambil organ target (otak dan mata) kemudian difiksasi dalam etanol 95%, selanjutnya dilakukan pengujian PCR secara konvensional di Laboratorium Virologi. Hasil yang didapat dari pengujian VNN pada ikan kerapu ekor bulan (*Variola sp.*) adalah ikan tersebut dapat terinfeksi VNN tanpa menunjukkan gejala klinis. Hasil ini ditunjukkan pada sampel yang berasal dari Teluk Tomini dan sampel yang berasal dari Teluk Kwandang. Tingkat prevalensi VNN dari Teluk Tomini lebih tinggi jika dibandingkan prevalensi dari Teluk Kwandang, selain itu ditemukam infeksi cacing *Philometra sp.* pada gonad ikan dari kedua perairan. Infeksi VNN pada ikan kerapu ekor bulan tidak berasosiasi dengan serangan cacing *Philometra sp.*

**Kata Kunci:** Betanodavirus, Kerapu, PCR, VNN

### **ABSTRACT**

*Grouper (Family Serranidae) is one of the betanodavirus hosts. Betanodaviruses can infect species in tropical, subtropical or cold climates. This is a major concern because it has been reported to infect a variety of marine fish, both farmed and wild fish. The disease caused by this virus is commonly known as Viral Nervous Necrosis (VNN) or Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER). This VNN disease is characterized by vacuolar necrosis of cells found in the brain, retina and spinal cord, can cause up to 100% mortality in larvae and juveniles and can cause significant losses in older fish. Infected fish, both wild and farmed, can act as*

*reservoirs (nesting sites and breeding grounds for viruses) and can be a source of infection for farmed species. The method used in this research is descriptive method. VNN testing on groupers by taking target organs (brains and eyes) and then fixed with 95% ethanol then carrying out conventional PCR testing at the Virology Laboratory. The results obtained from VNN testing on Lunar-Tailed grouper (Variola sp.) are that these fish can be infected with VNN without showing clinical symptoms. These results are shown in samples originating from Tomini Bay and samples originating from Kwandang Bay. The prevalence rate of VNN from Tomini Bay was higher than the prevalence from Kwandang Bay, in addition, *Philometra sp.* worm infection was found on the gonads of fish from both waters. VNN infection in Lunar-Tailed grouper is not associated with *Philometra sp.* worm attack.*

**Keywords:** *Betanodavirus, Grouper, PCR, VNN*

## **PENDAHULUAN**

Ikan Kerapu yang dalam dunia internasionalnya biasa disebut dengan nama grouper ataupun *coral reef fish* merupakan tipe ikan yang biasa hidup di perairan terumbu karang (Sajriawati & Amir, 2019). Menurut (Achmad et al., 2018) stok ikan kerapu di sebagian perairan di Indonesia sudah menghadapi penyusutan populasi. Penanda yang bisa menggambarkan penyusutan stok ini yaitu menyusutnya dimensi serta jumlah hasil tangkapan. Aspek yang menimbulkan penyusutan stok ikan kerapu antara lain disebabkan aktivitas penangkapan yang besar, utamanya pemakaian perlengkapan tangkap yang bisa merusak dan menurunkannya daya dukung lingkungan (Prasetya, 2014).

Ikan kerapu di perairan Provinsi Gorontalo saat ini termasuk yang terdampak tekanan kegiatan penangkapan dan degradasi kualitas lingkungan. Salah

satu faktor penting yang dapat mempengaruhi kualitas suatu lingkungan perairan adalah suhu. Perubahan iklim global yang disebabkan oleh pemanasan global dapat memicu kenaikan suhu permukaan air laut. Kenaikan suhu permukaan air laut dapat memberikan efek buruk bagi terumbu karang yaitu pemutihan terumbu karang (*coral bleaching*) yang berakibat matinya terumbu karang. Banyaknya terumbu karang yang mati selanjutnya juga akan mempengaruhi ikan maupun ekosistem terumbu karang (Faiqoh et al., 2019).

Pada dasarnya wabah penyakit dapat timbul apabila kualitas lingkungan kurang baik, sehingga menjadi penyebab stress pada ikan (Novriadi et al., 2014). Salah satu penyakit yang biasa menyerang ikan kerapu adalah virus dari golongan betanodavirus. Penyakit yang disebabkan oleh virus ini umumnya dikenal sebagai *Viral Nervous Necrosis (VNN)* atau *Viral*

*Encephalopati and Retinopati* (VER) (Yanong, 2019). Secara keseluruhan, betanodavirus telah terdeteksi pada lebih dari 160 spesies ikan dan beberapa moluska, baik sebagai inang yang rentan yaitu inang yang menunjukkan gejala klinis dan dampak yang signifikan saat terinfeksi, maupun sebagai inang pembawa yang biasanya tidak menunjukkan gejala (Toffan & Panzarin, 2020).

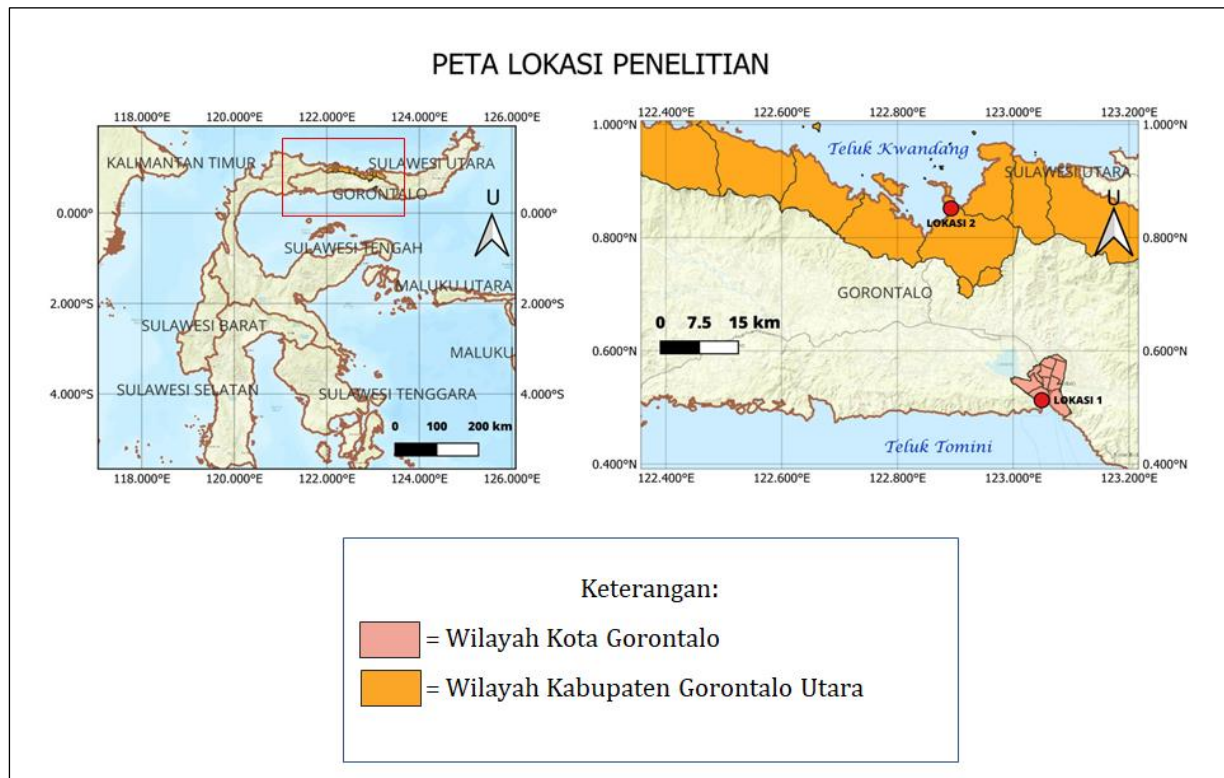
Menurut Bandín & Souto (2020), sebaran VNN di perairan laut di Asia Tenggara dan Australia adalah dari jenis *Red-spotted Grouper Nervous Necrosis Virus* (RGNNV). Selama ini identifikasi VNN yang dilakukan sering terbatas pada beberapa jenis ikan laut yang dibudidayakan seperti identifikasi VNN pada Kerapu Macan (Kurniawati et al., 2019), Kerapu Hibrida (Kerapu Cantang dan Cantik), Ikan Kakap putih (Sembiring et al., 2018) Ikan Nila (Prihartini, 2016), maupun berbagai jenis ikan laut maupun tawar lainnya (Bandín & Souto, 2020). Sedangkan pengujian VNN pada Ikan kerapu ekor bulan (*Variola* sp.) belum pernah dilakukan. Selain itu, penyakit VNN dapat menyebabkan gejala klinis seperti rusaknya jaringan mata, otak, warna tubuh yang pucat ataupun gelap (Sembiring et al., 2018) ; (Bandín & Souto, 2020), peradangan pada otot jantung dan limpa (Sudaryatma & Tri Lestari, 2014) sehingga dapat menurunkan kualitas mutu

ikan hasil tangkapan. Padahal Ikan kerapu ekor bulan sering ditangkap nelayan dan diperjual-belikan oleh masyarakat di wilayah Gorontalo. Di negara-negara tertentu seperti Maladewa dan India ikan ini dijual secara lokal maupun diekspor dan juga diperdagangkan sebagai ikan akuarium dan perdagangan makanan ikan hidup (Nair, 2018).

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan tempat**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2022. Jumlah lokasi penelitian ini yaitu sebanyak 2 lokasi. Lokasi I berada di TPI Tenda, Kota Gorontalo yang merupakan tempat bersandarnya kapal perikanan yang berasal dari Perairan Teluk Tomini. Sedangkan Lokasi II adalah di TPI Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara yang merupakan tempat bersandarnya kapal perikanan dari Perairan Teluk Kwandang, Laut Sulawesi. Adapun pengujian VNN dilaksanakan di Laboratorium Virologi Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Gorontalo. Lokasi penelitian dapat dilihat di Gambar 1.



**Gambar 1.** Lokasi Penelitian (Data ESRI Image diolah dengan QGIS)

### Metode Pengujian VNN

Pengujian VNN dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) secara konvensional. PCR termasuk teknik melipat gandakan bagian fragmen DNA yang terdapat dalam kompleks makromolekul genom dari berbagai organisme yang berasal dari hewan, tumbuhan, bakteri, maupun virus sehingga menjadi sebanyak  $2^n$  kali lipatnya dengan bantuan enzim tertentu. Teknologi ini memiliki tingkatan sensitifitas yang lumayan baik dan hanya membutuhkan sebagian kecil contoh DNA saja untuk memperoleh jutaan kopi DNA baru (Budiarto, 2015).

Adapun tahapan pengujian VNN di SKIPM Gorontalo adalah sebagai berikut:

Langkah pertama yaitu mengambil ikan sampel. Sampel yang diambil dari perairan Gorontalo berasal Teluk Tomini dan Teluk Kwandang pada bulan Oktober 2022. Pengambilan sampel ikan dari Teluk Tomini dilakukan di TPI Tenda, Kota Gorontalo, sedangkan sampel ikan dari Teluk Kwandang diambil dari TPI Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara. Jenis ikan kerapu ekor bulan yang diambil terdiri dari dua spesies yang berbeda yaitu *Variola albimarginata* dan *Variola louti*. Ikan yang diambil sebagai sampel sebaiknya adalah ikan yang memiliki tanda-tanda visual seperti warna pucat,

gelap atau yang mengalami kerusakan pada mata. Jika tidak didapatkan, maka diambil sampel secara sampling. Sampel yang sudah diperoleh kemudian diambil organ mata dan otaknya dan dimasukkan ke dalam larutan fiksatif Ethanol 95%.

Langkah kedua adalah melakukan ekstraksi sampel yang bertujuan untuk memurnikan DNA/RNA. Ekstraksi sampel menggunakan metode *Silica Extraction Kit* (GeneReach Biotechnology Corp, Taiwan).

Langkah ketiga adalah amplifikasi DNA. Amplifikasi bertujuan memperbanyak fragmen DNA secara eksponensial sehingga lebih mudah dideteksi. Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan alat Thermal Cycler TC Plus (TEHNE).

Langkah keempat adalah elektroforesis. Elektroforesis berarti perpindahan molekul-molekul bermuatan di dalam medan yang dialiri listrik (Rohmana et al., 2016) yang diawali dengan memipetkan hasil amplifikasi DNA ke dalam medium agarose yang kemudian diberi aliran listrik, sehingga setiap molekul yang mengandung DNA tersebut mengarah ke kutub positif ataupun kutub negatif tergantung pada muatannya. Tiap molekul yang bermuatan negatif akan berpindah menuju kutub positif (anoda), sebaliknya, molekul bermuatan positif akan bergeser ke kutub negatif (katoda).

Durasi perpindahan elektroforesis dipengaruhi oleh panjang-pendeknya pita DNA. Artinya jika pita DNA semakin panjang, maka proses yang dibutuhkan semakin lama.

Langkah terakhir adalah interpretasi hasil. Tahap ini merupakan tahap identifikasi VNN dengan menggunakan alat *UV Transilluminator* (UVITEC Essential V6). Hasil uji VNN dinyatakan positif apabila menunjukkan 230 bp (Kurniawati et al., 2019); (Nurlita et al., 2020) dengan cara mengecek *band* (pita) yang terletak sejajar dengan garis kontrol positif (DNA dari VNN), namun jika tidak muncul pita (*band*) pada sampel yang diuji tersebut maka negatif VNN. Setelah selesai identifikasi, maka dihitung jumlah prevalensi VNN pada ikan. Perhitungan nilai prevalensi menurut Sembiring et al., (2018) adalah:

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Jumlah terinfeksi Penyakit}}{\text{Jumlah sampel}} \times 100 \%$$

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh pada saat penelitian ini akan dianalisis secara deskriptif. Penelitian deskriptif ini dimaksudkan untuk menjelaskan sebuah kondisi suatu objek, menentukan frekuensi kemunculan sesuatu, memilah-milah informasi, serta untuk mengungkap fakta yang ditemui (*fact finding*). Hasil riset lebih

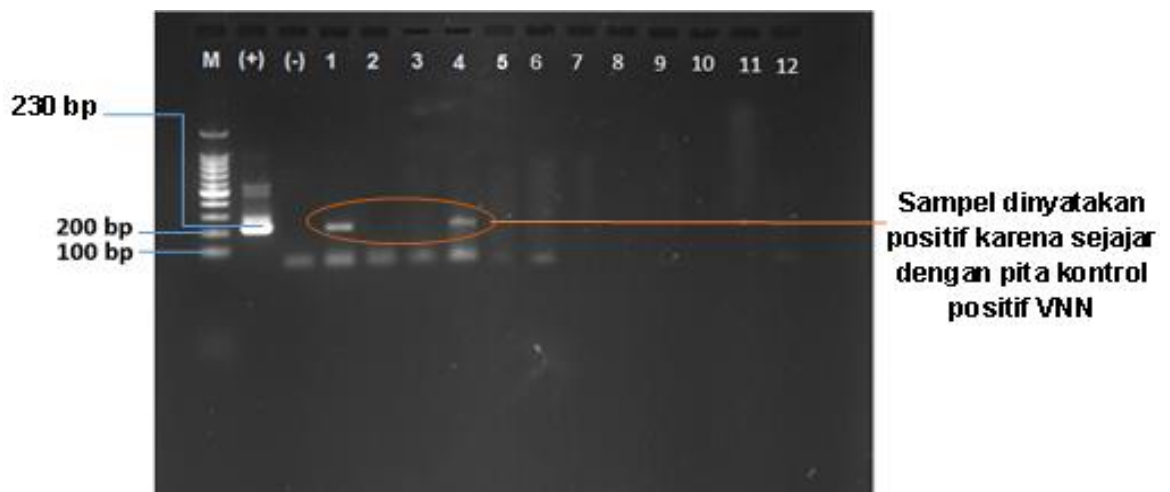
ditekankan pada pemberian cerminan secara objektif tentang keadaan sesungguhnya dari objek yang diteliti, kemudian menginterpretasikan hasilnya sebaik mungkin (Raihan, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian VNN dengan metode PCR pada total 22 sampel ikan kerapu ekor bulan yang terdiri dari 12

sedangkan 19 ekor lainnya hasilnya negatif VNN. Hasil Pengujian PCR pada ikan dari Teluk Tomini dan Teluk Kwandang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.

Setelah diketahui jumlah sampel yang terinfeksi, selanjutnya dihitung Prevalensi VNN. Hasil dari perhitungan prevalensi diperoleh prevalensi serangan VNN pada sampel ikan kerapu yang berasal dari Teluk Tomini adalah sebanyak 16,66 %.



**Gambar 2.** Hasil uji PCR sampel dari Teluk Tomini

Keterangan Gambar 2:

- M : Marker (garis tanda) 100 bp
- (+) : Kontrol positif DNA VNN
- (-) : Kontrol negatif
- 1,4 : Sampel uji positif VNN
- 2-3 : Sampel uji negatif VNN
- 5-12 : Sampel uji negatif VNN

sampel berasal dari TPI Tenda (Teluk Tomini) dan 10 sampel berasal dari TPI Kwandang (Teluk Kwandang) menunjukkan bahwa sebanyak 3 ekor ikan yang positif terinfeksi VNN (2 sampel yang positif VNN berasal dari TPI Tenda dan 1 sampel positif VNN dari TPI Kwandang),

Sedangkan prevalensi VNN pada sampel yang berasal dari Teluk Kwandang yaitu sebesar 10 %. Tingkat prevalensi VNN yang diperoleh pada ikan kerapu yang berasal dari Teluk Tomini lebih tinggi dibandingkan ikan kerapu yang berasal dari Teluk Kwandang.



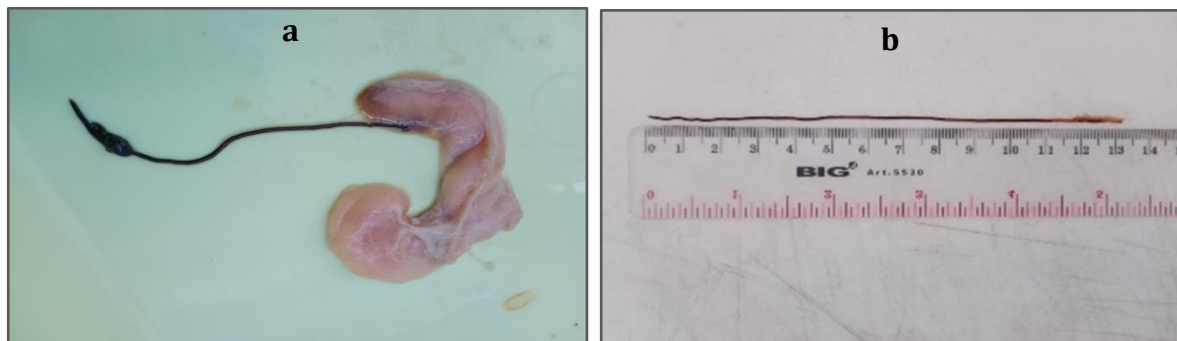
**Gambar 3.** Hasil uji PCR sampel dari Teluk Kwandang

Keterangan Gambar 3:

- M : Marker (garis tanda) 100 bp
- (+) : Kontrol positif DNA VNN
- (-) : Kontrol negatif
- 1-3 : Sampel uji negatif VNN
- 4 : Sampel uji positif VNN
- 5-10 : Sampel uji negatif VNN

Apabila dilihat dari gejala klinis, hanya ada 1 ekor ikan yang memiliki gejala klinis terserang VNN, yakni gejala pucat pada seluruh tubuhnya yakni sebanyak 1 ekor menunjukkan hasil positif saat diuji VNN. Sementara itu, sebanyak 21 ekor sampel lainnya tidak menunjukkan gejala klinis terinfeksi, namun 2 diantaranya menunjukkan hasil positif saat diuji VNN.

Pada saat pemeriksaan gejala klinis pada gelembung renang dan ginjal pada ikan, tidak terlihat tanda-tanda klinis yang abnormal secara visual seperti mengalami pembengkakan atau kerusakan organ. Namun hal yang menarik, pada saat pemeriksaan gonad pada ikan ditemukan infeksi cacing pada 4 ekor ikan. Parasit cacing menginfeksi 2 ekor ikan dari TPI



**Gambar 4a.** Infeksi cacing pada gonad ikan

**4b.** Cacing *Philometra* sp. dengan panjang  $\pm$  13 cm

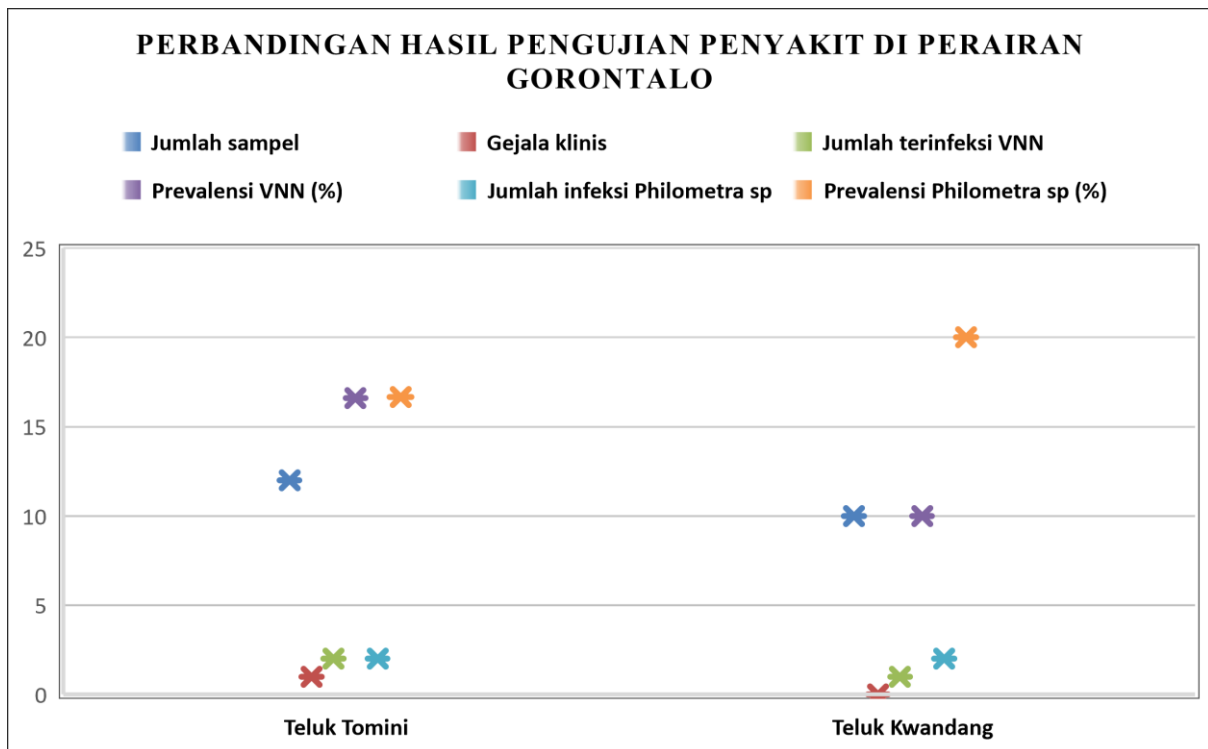
Tenda dan 2 ekor dari TPI Kwandang. Dari sebanyak 4 ikan yang terinfeksi cacing, spesies ikan kerapu *Variola louti* merupakan yang jenis yang paling banyak terserang yaitu sebanyak 3 ikan. Sedangkan 1 ekor lainnya yang terserang cacing adalah Ikan kerapu *Variola albimarginata*. Jumlah parasit pada masing-masing ikan adalah 1 individu/ekor. Infeksi cacing pada gonad ikan kerapu ekor bulan (*Variola* sp.) dapat dilihat pada Gambar 4.

Setelah dilakukan identifikasi parasit, jenis cacing yang menginfeksi adalah cacing *Philometra* sp. Cacing *Philometra* sp. adalah cacing dari Filum Nematoda yang sering menginfeksi gonad ikan laut

(Rasheed, 1963); (Moravec et al., 2017) juga menginfeksi pada mata dan gonad ikan kerapu *Variola louti* (Dewi & Palm, 2013). Berdasarkan hasil pengamatan, infeksi *Philometra* sp. pada ikan tidak berasosiasi terhadap infeksi VNN. Hal ini dibuktikan dengan adanya sampel yang tidak terinfeksi cacing dan tidak memiliki gejala klinis, yaitu 17 sampel ikan yang justru 2 diantaranya terinfeksi VNN. Perbandingan hasil pengujian penyakit pada masing-masing perairan Gorontalo dapat dilihat di grafik pada Gambar 5.

### KESIMPULAN

Hasil yang didapat dari pengujian VNN pada ikan kerapu ekor bulan (*Variola*



Gambar 5. Grafik Hasil Pengujian Penyakit



sp.) adalah ikan kerapu ekor bulan dapat terinfeksi VNN tanpa menunjukkan gejala klinis. Hasil ini bukan saja ditunjukkan pada sampel yang berasal dari Teluk Tomini, namun juga pada ikan sampel yang berasal dari Teluk Kwandang. Tingkat prevalensi VNN dari Teluk Tomini lebih tinggi jika dibandingkan prevalensi dari Teluk Kwandang. Terdapat infeksi cacing *Philometra* sp. pada gonad ikan kerapu ekor bulan yang berasal dari Teluk Tomini maupun teluk Kwandang. Infeksi VNN pada ikan kerapu ekor bulan tidak berasosiasi dengan serangan cacing *Philometra* sp.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, D., Alam Ali, S., & Yusran Nur Indar. (2018). Potensi Lestari Ikan Kerapu di Teluk Kwandang Kabupaten Gorontalo Utara Maximum Sustainable Yield of Grouper in. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan Dan Perikanan V*, 127-134.
- Bandín, I., & Souto, S. (2020). Betanodavirus and VER disease: A 30-year research review. In *Pathogens* (Vol. 9, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020106>
- Budiarto, B. R. (2015). Polymerase Chain Reaction (PCR) : Perkembangan dan Perannya dalam Diagnostik Kesehatan. *BioTrends*, 6(2), 29-38. <http://www.scienceguardian.com/blog/a->
- Dewi, K., & Palm, H. W. (2013). Two New Species of Philometrid Nematodes (Nematoda: Philometridae) in *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822) from the South Bali Sea, Indonesia. *Zootaxa*, 3609(1), 49-59. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3609.1.3>
- Faiqoh, Elok., I Wayan G.A.K & Dwi Budi Wiyanto (2019). Dampak Pemutihan Karang Keras pada Komunitas Ikan Karang dan Makrozoobenthos di Wilayah Perairan Tejakula, Buleleng, Bali. *Rekayasa: Journal of Science and Technology*, 12(1): 24-29
- Kurniawati, M. D., Sumaryam, & Nurul Hayati. (2019). Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Konvensional dan Real Time-PCR untuk Deteksi Virus VNN (*Viral Nervous Necrosis*) pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal TECHNO-FISH*, 3(1).
- Moravec, F., Chaabane, A., Neifar, L., Gey, D., & Justine, J.-L. (2017). Species of *Philometra* (Nematoda, *philometridae*) from Fishes Off the Mediterranean Coast of Africa, with a Description of *Philometra rara* n. sp. from *Hyporthodus haifensis* and a Molecular Analysis of *Philometra saltatrix* from *Pomatomus saltatrix*. *Parasite*, 24(8), 1-12. <https://doi.org/10.1051/para>
- Nair, R. J. , A. S. C. M. S. (2018). *IUCN.UK.2018-2.RLTS.T132738A100572909.en.2vari olalouti*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T132738A100572909.en>
- Novriadi, R., Agustatik, S., Hendrianto, H., Pramuanggit, R., & Wibowo, A. H. (2014). *Penyakit Infeksi Pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia*. Kementerian Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Direktorat kesehatan Ikan dan Lingkungan.

- <https://www.researchgate.net/publication/292477034>
- Nurlita, W., I Gde Suranaya Pandit, & Ni Made Darmadi. (2020). Detection of The Existence of Viral Nervous Necrosis on Fry Cantang Grouper at Rain Season. *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 4(1), 46–52. <https://doi.org/10.22225/seas.4.1.1687.46-52>
- Prasetya, R. (2014). Laju Eksploitasi Sumberdaya Ikan Kerapu di PERAIRAN Teluk Lasongko, Kabupaten Buton, Sulawesi Tenggara. *AquaMarine (Jurnal FPIK UNIDAYAN)*, 2(1), 1–10.
- Prihartini, N. C. (2016). Distribusi Pathogenik Virulensi VNN pada Benih Nila (*Oreochromis sp. Samakia*: *Jurnal Ilmu Perikanan*, 7(2), 51–56.
- Raihan, R. (2017). *Metodologi Penelitian*. Universitas Islam Jakarta.
- Rasheed, S. (1963). A Revision of the Genus *Philometra* Costa, 1845. In *Journal of Helminthology*.
- Rohmana, A., Fuad, M., Ulfin, I., & Kurniawan, F. (2016). Penggunaan Agar-agar Komersial sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS*, 5(2), C130–C133.
- Sajriawati, S., & Amir, A. (2019). Identification Fishing Gear of Groupers Environmentally Friendly, in Gusung Island Selayar Archipelago Regency. *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 1–10. <https://doi.org/10.35724/mfmj.v2i1.1765>
- Sembiring, S. B. M., Gigih Setia Wibawa, Ketut Mahardika, Zeny Widiastuti, & Haryanti. (2018). 90 Prevalensi Infeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) dan Iridovirus pada Hatcheri dan Budidaya Ikan Laut. *Media Akuakultur*, 13(2), 83.
- Sudaryatma, P. E., & Tri Lestari, A. (2014). Imunohistokimia Patogenitas Viral Nervous Necrosis Isolat Lapang Bali yang Diinfeksi pada Kerapu Macan Budidaya (Imunohistochemistry of Pathogenicity Viral Nervous Necrosis Bali Field Isolate are Infected in Tiger Grouper Marine Culture). *ACTA VETERINARIA INDONESIA*, 2(2), 54–61. <http://www.journal.ipb.ac.id/index.php/actavetindones>
- Toffan, A. P. v. (2020). 6. Viral Encephalopathy and Retinopathy/Viral Nervous Necrosis (VER/VNN). *Options Méditerranéennes*, B(75), 45–60. <http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=00007939><http://www.ciheam.org/http://om.ciheam.org/>
- Yanong, R. P. E. (2019). *Viral Nervous Necrosis (Betanodavirus) Infections in Fish 1*. <https://edis.ifas.ufl.edu>