



DETEKSI MOLEKULER *VIRAL NERVOUS NECROSIS* (VNN) PADA NENER IKAN BANDENG (*CHANOS CHANOS*) DI BULELENG, PROVINSI BALI

MOLECULAR DETECTION OF *VIRAL NERVOUS NECROSIS* (VNN) DISEASE IN THE FRY PHASE OF MILKFISH (*CHANOS CHANOS*) IN BULELENG, BALI PROVINCE

Anwar^{1*}, Diah Ayu Safitri², Budiati³

¹Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan, Denpasar, Bali

²Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur

³Program Studi Teknik Budidaya Perikanan, Politeknik Kelautan dan Perikanan Bone, Sulawesi Selatan

Email: anwarbkipmdenpasar@gmail.com

ABSTRAK

Berbagai penyakit baru ditemukan merebak di Indonesia menjadi kendala dalam keberlangsungan usaha budidaya perikanan, termasuk budidaya nener bandeng yang penyebarannya telah menjangkau pasar nasional hingga pasar Asia. Dampak yang dapat timbul akibat infeksi penyakit pada budidaya ikan dapat ditekan dengan penerapan praktik cara budidaya ikan yang baik (CBIB) dan biosekuriti. Analisis resiko skala laboratorium perlu dilakukan sebelum proses distribusi, untuk mendeteksi infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada nener bandeng dari hatchery di wilayah Buleleng, Bali. Data pada kajian ini di kumpulkan dari Laboratorium Pengujian Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (Balai KIPM) Denpasar selama rentang waktu 2022-2023. Metode molekuler yang digunakan untuk mendiagnosis VNN yaitu metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode analisis data yang digunakan yaitu penghitungan prevalensi. Berdasarkan data hasil analisis infeksi VNN, prevalensi VNN menunjukkan hasil nol atau tidak ada kasus positif nener terjangkit VNN. Sampel bandeng yang diperiksa tidak menunjukkan gejala klinis, yang mengindikasikan bahwa bandeng bukan merupakan inang spesifik penyebaran virus VNN. Prosedur biosekuriti yang dilakukan yaitu sterilisasi peralatan, sterilisasi lingkungan pemeliharaan, *treatment* biota, dan sterilisasi area pembenihan. Manajemen pakan dan lingkungan yang terkontrol menjamin kualitas benih yang dihasilkan berkualitas baik sehingga memenuhi standar ekspor. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa nener dari hatchery di Bali aman terjangkit VNN sebagai dampak dari penerapan prosedur biosekuriti yang baik.

KATA KUNCI: Nener Bandeng, PCR, Provinsi Bali, VNN

ABSTRACT

Various new diseases have been found spreading in Indonesia, which has become an obstacle to the sustainability of fish farming businesses, including milkfish farming, in which the spread has reached the national market to the Asian market. The impacts that can arise due to disease infections in fish farming can be reduced by implementing good aquaculture practices (CBIB) and biosecurity. Risk analysis study in laboratory is substantial before product delivery, to detect *Viral Nervous Necrosis* (VNN) infection in milkfish originated from hatcheries in the Buleleng area, Bali. Data was obtained from the Fish Quarantine Testing Laboratory, Quality Control and Safety of Fishery Products (Balai KIPM) Denpasar during 2022 -2023. The molecular method used to diagnose VNN was *Polymerase Chain Reaction* (PCR). The data analysis method used was prevalence calculation. Based on data from the analysis of VNN infection, the prevalence of VNN showed zero results or there were no positive cases of VNN infection in milkfish fry. The milkfish samples examined did not show clinical symptoms, which indicated that milkfish was not a specific host for the spread of the VNN virus. The biosecurity procedures performed consisted of equipment sterilization, environment sterilization, biota treatment, and hatchery area sterilization. Feed management and a controlled environment ensure that the quality of the seeds produced has a good quality so that it meets export standards. It can be concluded that fry from hatchery in Bali is safe from VNN infection as a result of implementing good biosecurity procedures.

KEYWORDS: Fry Milkfish, PCR, Bali Province, VNN

PENDAHULUAN

Nener adalah benih ikan bandeng yang berasal dari alam atau kegiatan pembenihan sejak dari telur menetas hingga berumur 17-25 hari yang berukuran antara 14-15 mm serta masih mengalami perubahan bentuk organ tubuh dan warna. Nener telah diekspor ke berbagai negara di Asia. Negara tujuan utama ekspor nener Indonesia adalah Filipina. Negara tujuan ekspor nener lainnya adalah Taiwan, Singapura, Thailand, Sri Lanka, Malaysia, Hongkong, China, Kolombia, Timor Timur, dan Vietnam (KKP, 2020). Secara global, produksi ikan bandeng menduduki peringkat ke-9 dalam kuantitas yang dihasilkan dan menyumbang 3,63% produksi budidaya dunia (FAO, 2017).

Berbagai penyakit baru ditemukan merebak di Indonesia, menjadi kendala dalam keberlangsungan usaha budidaya perikanan, termasuk budidaya ikan bandeng. Hama dan penyakit ikan mewabah dalam waktu relatif singkat dan merugikan perekonomian serta kesehatan masyarakat (Peraturan Pemerintah Nomor 29 Tahun 2023). Pemerintah pusat menetapkan untuk melakukan pencegahan hama penyakit masuk, keluar, dan tersebar dari wilayah RI (KEPMEN-KP Nomor 51, 2020). Pengujian terhadap komoditas perikanan ekspor impor dan antar wilayah RI berdasarkan pada daftar Hama dan penyakit ikan karantina (HPIK) yang disusun secara berkala (KEPMEN-KP Nomor 91, 2018). Daftar HPIK antara lain: *Viral Nervous Necrosis* (VNN), *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), *Taura Syndrome Virus/Picornavirus* (TSV), *Virus/Parvovirus* (IHHNV), *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV), *Infectious Hypodermal and Haematopoietic Necrosis Red Sea Bream Iridovirus* (RSIV), *Koi Herpes Virus* (KHV), dan *Tilapia Lake Virus* (TILV) (KKP, 2016., Koesharyani *et al.*, 2018).

Berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor 91 tahun 2018, diketahui bahwa ikan bandeng rentan terhadap infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). VNN telah menyebar di 33 kabupaten/kota hingga tahun 2016, dan ditetapkan sebagai Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) Golongan I (KKP, 2016; Purbadi, 2023). VNN merupakan penyakit yang banyak ditemukan pada komoditas perikanan air laut yang menyebabkan mortalitas tinggi pada larva dan juvenil ikan (Achmad, 2021).

Risiko tersebarnya penyakit VNN melalui pintu pengeluaran antar wilayah di Indonesia maupun dunia cukup tinggi, seiring tingginya frekuensi pengiriman komoditas bandeng. Pintu lalu lintas berupa pelabuhan laut dan sungai, bandara, kantor pos, stasiun kereta api, pos lintas batas negara (KEPMEN-KP Nomor 91, 2018). Komoditas ikan bandeng yang dilalulintaskan melalui SKIPM Yogyakarta terdeteksi VNN, komoditas tersebut berasal dari daerah-daerah Bali, Jawa Tengah dan Jawa Timur (Achmad *et al.*, 2020).

Dampak yang dapat timbul akibat infeksi penyakit pada budidaya ikan dapat ditekan dengan penerapan praktik akuakultur yang baik (CBIB) dan langkah-langkah biosekuriti. Sehingga produktivitas budidaya dapat dimaksimalkan dan memastikan produk akuakultur yang aman dan berkualitas.

Kajian ini disusun sebagai langkah untuk menganalisa resiko dengan mendeteksi infeksi virus penyebab penyakit VNN melalui pendekatan molekuler dengan metode PCR pada nener yang dibudidayakan di Wilayah Buleleng, Bali sebelum dilakukan pengiriman melalui pintu lalulintas oleh Balai KIPM Denpasar. Pengujian VNN pada ikan Bandeng diperlukan sebagai persyaratan sertifikasi uji kelayakan lalu lintas dan pemantauan HPIK (Achmad *et al.*, 2020).

BAHAN DAN METODE

Data yang dianalisis dalam penelitian ini adalah data sekunder, berupa data pengujian infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada benih ikan bandeng (nener) yang akan dilalulintaskan keluar dari Provinsi Bali tahun 2022-2023. Pengujian sampel nener sebelum didistribusikan merupakan salah satu langkah krusial dalam memastikan kualitas dan kelangsungan hidup nener bandeng tersebut. Proses ini melibatkan pemilihan sejumlah nener secara acak dari suatu populasi untuk mewakili keseluruhan kondisi populasi. Frekuensi sampel uji tergantung pada kuantitas pengiriman benih nener ke luar pulau Bali.

Nener atau benih ikan bandeng didapatkan melalui proses budidaya (pembenihan). Proses budidaya nener dimulai dari pemijahan hingga menghasilkan benih siap tebar. Benih siap tebar atau yang biasa disebut dengan nener bandeng

tersebut yang di distribusikan ke luar daerah. Lokasi pembenihan nener berada di Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali.

Proses pengujian sampel nener mengacu pada instruksi kerja terkait pengujian virus VNN oleh Laboratorium Karantina Ikan, Balai KIPM Denpasar, Bali. Metode molekuler yang digunakan untuk mendiagnosis VNN pada nener yaitu dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode ini termasuk jenis metode konvensional atau *nested Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Mu *et al.*, 2013).

Prosedur Kerja PCR

Tahapan pengujian PCR meliputi: tahap Denaturasi, Annealing, dan Ekstensi/Elongasi. Ketiga tahapan proses tersebut akan terjadi dalam 40 siklus yang berulang (Kurniawati *et al.*, 2019).

- a) Pada tahap Denaturasi, molekul DNA double-stranded (dsDNA) dipisahkan menjadi DNA single-stranded (ssDNA) sehingga primer dapat menempel pada sekuen yang komplementer.
- b) Pada tahap Annealing, primer (sekuen pendek DNA atau RNA) akan menempel pada untai tunggal DNA template yang telah dipisahkan pada tahap denaturasi. Proses penempelan ini sangat spesifik karena akan terjadi jika urutan basa pada primer komplementer dengan urutan basa pada DNA template.
- c) Pada tahap Ekstensi atau elongasi, untai DNA baru disintesis berdasarkan template DNA yang sudah dipisahkan pada tahap denaturasi, dan telah ditempelinya primer pada tahap annealing.

Analisis Data

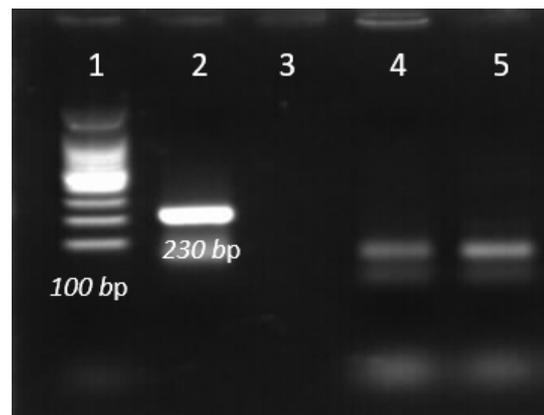
Data sekunder diperoleh dari Laboratorium Pengujian Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (Balai KIPM) Denpasar. Analisis data dilakukan secara deskriptif kuantitatif. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode penelitian deskriptif observasional.

Metode analisis data yang digunakan adalah menentukan prevalensi nener yang teridentifikasi positif VNN. Prevalensi adalah gambaran tentang frekuensi ikan terinfeksi yang ditemukan pada suatu jangka waktu tertentu di tempat tertentu. Perhitungan prevalensi merujuk pada Bradley and Nicole (2023). Adapun rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Ikan sampel yang terinfeksi VNN}}{\text{Total ikan sampel diperiksa}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil deteksi VNN pada sampel nener yang dianalisis menunjukkan kategori sampel yang negatif terinfeksi VNN (Gambar 1). Analisis parameter pengujian VNN yang dilakukan selama tahun 2022-2023, menunjukkan hasil prevalensi VNN nol atau tidak ada kasus positif nener terjangkit VNN (Tabel 1). Tingkat prevalensi VNN



Gambar 1. Hasil visualisasi DNA pada sampel

Keterangan: (1) marker 100 bp; (2) kontrol positif/ pendukung hipotesis (+); (3) kontrol negatif/dasar perbandingan (-); (4) sampel 1 (-); (5) sampel 2 (-)

tertinggi pada *hatchery* terjadi pada bulan September mencapai 33,33% sedangkan infeksi iridovirus tertinggi terjadi di bulan Agustus mencapai 18,6% (Sembiring *et al.*, 2018).

Benih bandeng (nener) disortir dan dilakukan grading berdasarkan hasil pengamatan visual. Nener yang menunjukkan perilaku abnormal dipisahkan. Gejala infeksi VNN yang nampak secara langsung antara lain ikan terlihat lemah,

Tabel 1. Prevalensi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada Nener

Tahun	Komoditas	Pengujian	Jumlah	Prevalensi
2022	Nener	VNN	465	0
2023	Nener	VNN	1.128	0

Tabel 2. Prosedur Biosekuriti

Tahapan	Item	Metode Penerapan
Sterilisasi Peralatan	Sarana dan prasarana	Sterilisasi sarana produksi yang terdiri dari wadah/bak produksi (bak pemeliharaan induk, bak pemijahan, bak penetasan dan bak larva yang terbuat dari semen/beton) dan filter bag menggunakan kaporit. Sedangkan sarana lainnya seperti ember, gayung, takaran pakan didesinfeksi menggunakan detergen saja. Sarana dan prasarana yang telah didesinfeksi selanjutnya disusun dan disimpan dengan rapi di tempat penyimpanan peralatan.
	Sumber air	Air yang digunakan di <i>hatchery</i> berasal dari perairan Pantai Gerokgak. Sebelum digunakan, air laut dilakukan proses filtrasi. Air laut disaring dengan menggunakan <i>filter</i> bag melalui saluran pipa yang tertutup untuk mencegah masuknya kontaminan, kemudian air hasil filtrasi dimasukkan kedalam kolam penampungan. Filter bag penting digunakan untuk mengoptimalkan kualitas air (Gunawan <i>et al.</i> , 2020). Selanjutnya dilakukan proses sterilisasi air dengan penambahan kaporit. Air didiamkan selama beberapa hari di kolam penampungan untuk memastikan air yang digunakan aman.
Sterilisasi Lingkungan Pemeliharaan	Suhu	Suhu kolam dimonitor dengan pengukuran berjangka menggunakan termometer minimum dan maksimum yang diletakkan di dalam air pemeliharaan. Suhu dijaga pada kisaran antara 28-30°C.
	Biota budidaya	Larva bandeng sangat sensitif terhadap perubahan kondisi lingkungan. Selama proses pemeliharaan, peluang biota terinfeksi serangan penyakit tinggi sehingga diperlukan <i>treatment</i> khusus untuk terus mempertahankan kualitas dan kesehatan nener. <i>Treatment</i> biota dilakukan khususnya pada nauplii yang baru menetas. <i>Treatment</i> biota yang dilakukan seperti perendaman iodine sebanyak 100 ppm selama 10-15 menit.
<i>Treatment</i> Biota	Pakan	Pakan pada biota pembenihan memerlukan perlakuan yang sangat ketat, selain itu pemberian pakan secara benar merupakan faktor penentu keberhasilan budidaya dikarenakan pakan sangat berpengaruh terhadap kesehatan ikan. Pakan ikan yang diberikan pada pemeliharaan nener yaitu plankton. Plankton ini diberikan ke dalam bak pemeliharaan mulai hari kedua hingga hari ke-13. Pemberian plankton dilakukan secara perlahan selama beberapa jam setiap hari dengan menggunakan selang kecil. Kepadatan plankton bertambah dari 200-500 liter.
	Ruangan pembenihan	Sterilisasi area pembenihan bertujuan untuk mematikan dan memutus rantai mikro organisme yang bisa menyebabkan penyakit. Area yang rentan adanya bakteri terutama pada lantai, saluran air, dan bak pemeliharaan. Larva yang mati dan sisa pakan menumpuk di dasar bak pemeliharaan. Sehingga perlu dibuang dengan cara disipon menggunakan selang. Pembersihan dasar bak dilakukan setiap hari, dimulai sejak hari ke-10 penebaran larva. Sanitasi lantai dan saluran dilakukan menggunakan kaporit yang sudah dilarutkan kedalam air tawar sebanyak 1000 ppm.

pergerakan renang yang tidak beraturan, terbalik, dan berputar, dan memiliki kerusakan pada organ mata (Sembiring *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suryani *et al* (2022), sampel bandeng yang diperiksa tidak menunjukkan gejala klinis, karena bandeng bukan merupakan inang spesifik penyebaran virus VNN. Gejala klinis dari infeksi penyakit tidak selalu tampak secara visual, sehingga pengujian secara laboratorium diperlukan untuk diagnosis lebih lanjut (FAO/NACA, 2001; Wasito *et al.*, 2013). Induk serta larva ikan bandeng dapat menjadi *repeatoar* virus VNN tanpa menimbulkan gejala (*asimptomatik*) yang bertanggungjawab pada transmisi horizontal (Costa dan Thompson, 2016), sehingga perlu adanya pengecekan lanjutan skala laboratorium oleh Balai KIPM Denpasar.

Pengecekan rutin pada nener yang dilalulintaskan selama rentang waktu dua tahun dengan jumlah individu yang jauh signifikan tetap menunjukkan hasil negatif VNN. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa pembenihan nener di tempat penetasan (*hatchery*) skala besar dan skala kecil di Buleleng, Bali telah dikontrol dengan baik dari ancaman hama dan penyakit.

Kegiatan pembenihan nener dilakukan menggunakan bak semen dengan sistem terbuka atau langsung tembus sinar matahari. Pemeliharaan lingkungan budidaya sangat penting untuk menjaga kestabilan biota yang ada didalamnya. Saat ikan mengalami stres, tingkat imunitas akan menurun, sehingga ikan rentan terhadap serangan penyakit hingga menyebabkan kematian (Sembiring *et al.*, 2018). Budidaya bebas HPIK dapat terwujud melalui penerapan prinsip biosekuriti. Prosedur biosekuriti yang diterapkan di lokasi budidaya dapat dilihat pada Tabel 2.

Praktek budidaya dan penerapan langkah-langkah biosekuriti dilakukan untuk mencegah terjadinya penyakit (Somga *et al.*, 2021). Penerapan biosekuriti harus dilakukan pada keseluruhan kegiatan pembenihan nener, baik pada operator, fasilitas, sarana dan prasarana, serta faktor pendukung untuk mencegah infeksi/penularan VNN (Novriadi *et al.*, 2015). Biosekuriti erat kaitanya dengan proses sterilisasi atau desinfeksi, dimana desinfeksi penting dilakukan untuk memutus rantai penyakit pada kolam budidaya (Delphino *et al.*, 2022). Efektivitas

biosekuriti tergantung pada berbagai faktor, baik teknis, managerial maupun ekonomi (Lestantun *et al.*, 2020).

Tindakan pencegahan penularan VNN dilakukan melalui pemeriksaan yang tepat terhadap benih yang didatangkan dari luar lokasi budidaya melalui instansi yang berwenang, seperti Balai Karantina Perikanan. Pelaksanaan manajemen cara budidaya ikan yang baik (CBIB), juga merupakan salah satu cara untuk mencegah terjadinya infeksi VNN. Kerjasama dengan institusi lain dalam program kesehatan komoditas budidaya harus terjalin.

Pada umumnya, kasus infeksi VNN memiliki kesamaan waktu atau musim penyebaran terjadi pada saat peralihan musim panas ke musim penghujan di mana suhu air menurun dan terjadi peningkatan konsentrasi bahan organik dalam wadah pemeliharaan. Kondisi ini menyebabkan stres yang berakibat menurunnya imunitas pada ikan. Tingkat kepadatan kolam juga menjadi faktor penyebaran VNN. Padat tebar yang cukup tinggi di hampir semua lokasi budidaya menyebabkan kejadian penyakit juga cukup tinggi akibat ikan yang stres sehingga menurunkan sistem imun (Manumpil *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) diketahui merupakan inang *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Prevalensi VNN yang dilakukan pengujian pada tahun 2022 dan 2023 menunjukkan hasil negatif, atau tidak ada kasus positif nener terjangkit VNN dengan prevalensi nol. Budidaya bebas HPIK dapat terwujud melalui penerapan prinsip biosekuriti. Prosedur biosekuriti yang dilakukan di *hatchery* yaitu sterilisasi peralatan, sterilisasi lingkungan pemeliharaan, treatment biota, dan sterilisasi area pembenihan. Manajemen pakan dan lingkungan yang terkontrol menjamin kualitas benih yang dihasilkan berkualitas baik sehingga memenuhi standar ekspor. Meskipun nener rentan terhadap VNN, tetapi bandeng bukan merupakan inang spesifik penyebaran virus VNN. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa nener dari *hatchery* di Bali aman terjangkit VNN sebagai dampak dari penerapan prosedur biosekuriti yang baik. Tindakan pencegahan penularan VNN dibutuhkan pemeriksaan terhadap komoditas yang dilalulintaskan, penerapan CBIB, pengurangan padat tebar sehingga mengurangi resiko stres pada nener.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada seluruh staf di Balai Karantina Ikan Pengendali Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Denpasar yang telah memberikan kontribusinya dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Achmad, H., Susanti, D., Lantiany, D., Suprianto, D.I., Novianto, H., & Rahman, H. (2020). Penilaian Resiko Hama Dan Penyakit Ikan Karantina Sebagai Upaya Pencegahan Penyebarannya Melalui Lalu Lintas Komoditas Perikanan Dari Yogyakarta. *Siganus: Journal of Fisheries and Marine Science*. 2 (1). 87-91.
- Achmad, H. (2021). Upaya Pencegahan Penyakit Pada Komoditas Perikanan yang Dilalulintaskan Antar Area dari Pintu Pengeluaran, Yogyakarta. *SIGANUS. Journal of Fisheries and Marine Science*. 3(1). 160 - 170 .
- Balai Budidaya Laut Lampung. (2020). Pengelolaan Kesehatan Ikan Budidaya Laut. *Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya*. Bandar Lampung
- Bradley, T.L., & Nicole, M. (2023). Outbreak! Investigation guidelines for aquatic animal disease events. *Fisheries Research and Development Corporation*. Melbourne. Agriculture Victoria.
- Costa, J.Z., & Thompson, K.D. (2016). Understanding the interaction between betanodavirus and its host for the development of prophylactic measures for viral encephalopathy and retinopathy. *Fish Shellfish Immunol*. 2016;53:35-49.
- FAO. (2017). Top 10 species groups in global aquaculture. *Food and Agriculture Organization*, 12 pp.
- FAO/NACA. (2001). Manual of Procedures for the Implementation of the Asia Regional Technical Guidelines on Health Management for the Responsible Movement of Live Aquatic Animals. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 402, Suppl. 1.(pp. 106). Rome: FAO.
- Gunawan, B.S., Tang, U.M., Syawal, H. 2020. Efisiensi penggunaan jenis filter dalam sistem resirkulasi terhadap kualitas air dan kadar glukosa darah ikan selais (Ompok hypophthalmus). *Berkala Perikanan Terubuk*, 48 (2): 394-402.
- KKP. (2016). Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor KEP.58/MEN/2016 Tentang Status Area Tidak Bebas Penyakit Ikan Karantina di Wilayah Republik Indonesia. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan. (2018). Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 91/KEPMEN-KP/2018 Tentang Penetapan Jeni-jenis Penyakit Ikan Karantina, Golongan, dan Media Pembawa. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- KKP. (2020). Kementerian Kelautan dan Perikanan, Budidaya bandeng di masa pandemi: Prospek dan tantangan. https://kkp.go.id/brsdm/bbrblgond_ol/artikel/26052-sharing-sessionbudidaya-bandeng-dimasapandemi-prospek-dan-tantangan.
- Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan. (2020). Nomor 51 Tahun 2020 tentang Tempat Pemasukan Dan Pengeluaran Media Pembawa Hama Dan Penyakit Ikan Karantina.
- Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan. (2021). Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 17 Tahun 2021 tentang Penetapan Jenis Penyakit Ikan Karantina, Organisme Penyebab, Golongan, Dan Media Pembawa.
- Koesharyani, I., Gardenia, L., Widowati, Z., Khumaira, & Rustianti, D. (2018). Studi Kasus Infeksi Tilapia Lake Virus (TIIV) Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(1), 85 - 92.
- Kurniawati, M.D., Sumaryam, S. and Hayati, I., (2019). Aplikasi *polymerase chain reaction* (PCR) konvensional dan *real time*-PCR untuk deteksi virus VNN (*viral nervous necrosis*) pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Techno-Fish*, 3(1), pp.19-30. <https://doi.org/10.25139/ff.v3i1.1629>
- Lestantun, A., Anggoro, S., Yulianto, B. (2020). Peran biosecurity dalam pengendalian penyakit pada benih udang vanamei di Banten. *Prosiding Seminar Nasional Universitas Diponegoro Semarang*, 53-58.
- Manumpil, S., Tumbol, R.A., & Lasut, M.T. (2015). Fish disease mapping in North Sulawesi Province. *Jurnal Aquatic Science & Management*, Vol. 3, No. 2, 38-44.
- Mu, Y., Lin, K., Chen, X., & Ao, J. (2013). Diagnosis of nervous necrosis virus in orange -spotted grouper, *Epinephelus coioides*, by a rapid and convenient RT -PCR method. *Acta Oceanologica Sinica*, 32, 88 -92.
- Novriadi, R., Sri, A., & Tanjung, D.O.N. (2015). Identifikasi Keberadaan Nervous Necrosis Virus dan Iridovirus Pada Budidaya Ikan Laut di Wilayah Kerja Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. *Omni-Akuatika* Vol.XIV No. 20 Mei 2015: 54-62.
- Purbadi, Drajat. (2023). Penyakit Viral Nervous Necrosis (VNN) Pada Ikan. *DKP Kulon Progo*. <https://dkp.kulonprogokab.go.id/detil/455/penyakit-viral-nervous-necrosis-vnn-pada-ikan>
- Sembiring, S.B.M., Gigih, S.W., Ketut, M., Zeny, W., & Haryanti. (2018). Prevalensi Infeksi *Viral Nervous*



- Necrosis* (VNN) dan Iridovirus pada hatcheri dan Budidaya Ikan Laut. *Media Akuakultur*, 13(2), 83.
- Somga, J. R., Somga, S. S., Rafanan, J. B. C., Loja, J. A. G., Yap, E. A. E., Mayor, M. E. A. E., Alvaran, I. M. D., & de la Cruz, C. M. (2021). Status of aquatic animal health in the Philippines. In F. A. Aya, L. D. de la Peña, N. D. Salayo, & E. A. Tendencia (Eds.), *Proceedings of the International Workshop on the Promotion of Sustainable Aquaculture, Aquatic Animal Health, and Resource Enhancement in Southeast Asia* (pp. 154–170). Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Suryani, S.A.M.P., Darmadi, N.M., Premananda, M.G., & Permana, G.N. (2022). Vertical Infections and Prevalence of *Viral Nervous Necrosis* (VNN) in Milkfish (*Chanos chanos*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*, Vol. 11(3).
- Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 21 Tahun 2019 Tentang Karantina Hewan, Ikan, Dan Tumbuhan.
- Walsh, P.S., Metzger, D.A. and Higuchi, R. (1991). Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4), pp.506-513. <https://doi.org/10.2144/000114018>
- Wasito, R., Wuryastuti, H., & Sutrisno, B. (2013a). Gambaran Histopatologi Insang Ikan Mas di Daerah Endemik Koi Herpesvirus (*Histopathologic Findings Of Gills Of The Common Carps In The Endemic Area Of Koi Herpesvirus*). *Jurnal Veteriner*, 14(3), 344-349.