



PREVALENSI IRIDOVIRUS DAN VIRAL NERVOUS NECROSIS PADA IKAN KERAPU CANTANG
(*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*)

PREVALENCE OF IRIDOVIRUS AND VIRAL NERVOUS NECROSIS IN CANTANG GROUPER
(*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*)

Fadia Tantri Alfianti¹, Dzikri Wahyudi¹, Prasetya Wahyu Kusuma², Wahyu Budi Wibowo³, Guntur Prabowo¹, Achmad Suhermanto^{1*}

¹Politeknik Kelautan dan Perikanan Karawang, Jl. Lingkar Tanjungpura, Karangpawitan, Kec. Karawang Barat, Karawang, Jawa Barat 41315, Indonesia

²Penyuluhan Perikanan, Balai Pelatihan dan Penyuluhan Perikanan Banyuwangi, Jl. Raya Situbondo Desa No.Km. 17, Parasputih, Bangsring, Banyuwangi, Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur 68453, Indonesia

³Balai Perikanan Budidaya Air Tawar Sungai Gelam, Jl. Bumi Perkemahan Pramuka, Sungai Gelam, Muaro Jambi, Kec. Sungai Gelam, Jambi, 36364, Indonesia

Korespondensi: achmadsuhermanto@kkp.go.id (A Suhermanto)

Diterima 1 November 2023 – Disetujui 23 Agustus 2024

ABSTRAK. Ikan kerapu cantang merupakan komoditas unggulan sentra pemberian kerapu cantang yaitu Jawa Timur dan Bali yang merupakan unggulan Indonesia. Pembesaran ikan kerapu cantang ini terhambat disebabkan oleh salah satunya penyakit yang disebabkan Iridovirus dan Viral Nervous Necrosis (VNN). Kedua penyakit tersebut menyerang stadia benih yang menyebabkan kematian tinggi, sehingga diperlukan deteksi awal infeksi untuk tindakan preventif selanjutnya. Penelitian ini bertujuan untuk menditeksi dan menginventarisasi virus Iridovirus dan VNN pada ikan kerapu cantang. Penelitian ini dilakukan di BPBAP Situbondo, diteksi Iridovirus menggunakan PCR konvensional dan VNN menggunakan rRT-PCR. Sampel kerapu cantang berukuran 2,5-12 cm berasal dari Situbondo dan sekitarnya, Bali, dan Lombok dengan total 23 sampel. Hasil uji menunjukkan bahwa semua sampel negatif Iridovirus, sedangkan pemeriksaan VNN menunjukkan hasil 3 sampel positif dan 20 sampel negatif. Pengamatan gejala klinis menunjukkan ikan kerapu cantang dalam keadaan sehat, berenang aktif dan tidak menunjukkan gejala infeksi Iridovirus dan VNN. Prevalensi infeksi VNN pada ikan kerapu cantang 13,04% yang termasuk dalam kategori infeksi sering.

KATA KUNCI: Cantang, iridovirus, penyakit, Situbondo, viral nervous necrosis.

ABSTRACT. Cantang grouper is a leading commodity, especially hatchery centers, namely East Java and Bali which is Indonesia's flagship. The growth of cantang grouper fish is hampered by one of the diseases caused Iridovirus and Viral Nervous Necrosis (VNN). These two diseases attacks the seed stage which causes high mortality, so that early detection is needed for preventive action. This study aims to detect and inventory of Iridovirus and VNN in cantang grouper. This research was carried out at BPBAP Situbondo, Iridovirus was detected using conventional PCR and VNN using rRT-PCR. Cantang grouper samples measuring 2,5-12 cm came from Situbondo and its surroundings, Bali and Lombok with a total of 23 samples. The test results showed that all samples were negative for Iridovirus, while the VNN examination showed 3 positive samples and 20 negative samples. Observation of clinical symptoms showed that the cantang grouper were in good health, swimming actively and did not show symptoms of Iridovirus and VNN infection. The prevalence of VNN infection in cantang grouper 13,04% which was included in the category of frequent infections.

KEYWORDS: Cantang, diseases, iridovirus, Situbondo, viral nervous necrosis.

1. Pendahuluan

Ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) merupakan salah satu jenis ikan air laut yang mempunyai peluang untuk dibudidayakan karena memiliki harga ekonomis tinggi baik secara nasional maupun internasional dan permintaan dalam kondisi hidup mengalami peningkatan (Othman, 2015). Ikan kerapu cantang termasuk

salah satu dari jenis ikan kerapu yang banyak dibudidayakan dan menjadi primadona dibandingkan jenis kerapu lain. Kerapu Cantang dihasilkan dari persilangan ikan kerapu macan betina (*Ephinephelus fuscoguttatus*) dengan kerapu kertang jantan (*Ephinephelus lanceolatus*). Persilangan ini dilakukan untuk memperoleh ikan yang memiliki sifat unggul yaitu kelangsungan hidup lebih baik, produksi pada benih meningkat, serta laju pertumbuhan yang cepat (Widiartini, 2022).

Peningkatan pertumbuhan yang cepat pada ikan kerapu cantang tidak diimbangi dengan peningkatan sistem pertahanan tubuh yang kuat sehingga sering menyebabkan kegagalan dalam proses budidaya karena terserang penyakit dan menyebabkan kerugian (Wei et al. 2019). Serangan penyakit pada kerapu cantang terjadi di Indonesia, Singapura, Malaysia, dan China (Hazreen-Nita,, et al. 2019; Yu et al. 2019; Wei, et al. 2019). Periode 2017-2018, dari 30 hatchery yang ada di Situbondo, 24 di antaranya mengalami kegagalan budidaya sebanyak tiga siklus berturut-turut yang disebabkan oleh infeksi penyakit dengan kematian tinggi. Gejala serangan penyakit adalah ikan berenang berputar atau berenang tidak normal, nafsu makan menurun, warna tubuh menjadi gelap, diam di dasar, dan mengalami kematian, gejala ini sebagai penanda bahwa kematian ikan kerapu cantang disebabkan oleh virus (Khumaidi, et al. 2019). Virus yang sering menginfeksi ikan Kerapu Cantang terutama pada stadia larva dan juvenil adalah *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dan Iridovirus (Razak, et al., 2014; Hazreen-Nita, et al., 2019; Yu, et al., 2019; Rimmer, et al., 2019). Virus ini mampu menginfeksi ikan dari ukuran benih hingga ukuran konsumsi dalam rentang waktu dua minggu, dengan kematian mencapai 80% sampai 100% (Sembiring, 2018).

Diteksi dini infeksi penyakit virus perlu dilakukan karena virus yang bersifat akut dapat menyebabkan kematian cepat dengan atau tanpa gejala. Deteksi awal agen penyebab penyakit, salah satunya menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Keunggulan deteksi dengan metode PCR adalah hasil yang diperoleh lebih cepat dan akurat didasarkan atas spesifitas, efisiensi, dan keakuratannya. Penelitian ini bertujuan untuk deteksi dan mengetahui prevalensi Iridovirus dan VNN pada ikan kerapu cantang.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo dan Laboratorium *Teaching Factory* (TEFA) Budi Daya Ikan Politeknik Kelautan dan Perikanan Karawang, pengambilan sampel dan pemeriksaan dilakukan mulai November 2022 sampai dengan Januari 2023.

2.2. Deteksi Iridovirus dan VNN

Sampel kerapu cantang berasal dari tambak kerapu di Balai Perikanan Budidaya Air Payau Situbondo dan sekitarnya, serta sampel dari luar pulau Jawa yaitu Bali dan Lombok. Sampel untuk pemeriksaan Iridovirus dan VNN, berupa kerapu cantang dengan kriteria sampel berukuran $\geq 2,5$ cm organ target mata dan otak, sedangkan sampel berukuran $\leq 2,5$ cm target semua bagian tubuh atau hanya bagian kepala saja. Pengambilan organ mata dan otak disebabkan karena organ tersebut memiliki reseptor yang spesifik dengan virus VNN (Yu, et al. 2019). Virus ini ditemukan berada dalam sitoplasma sel otak pada ikan kerapu. Organ yang sudah diambil dimasukkan dalam botol sampel Ethanol 70%.

Preparasi sampel dilakukan dengan memasukkan organ limpa (Wei, et al., 2019) dan ginjal untuk analisa Iridovirus ke dalam larutan etanol C₂H₅OH.p.a. Sampel organ ginjal dan limpa sebanyak 25-30 mg dipotong kecil kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube 2 mL, hasil DNA kemudian disimpan dalam freezer dengan suhu -20 °C (Bachtiar, 2020).

Ekstraksi DNA/RNA untuk deteksi Iridovirus/VNN menggunakan silica GT Buffer (IQ2000). Sampel uji Iridovirus berupa otak dan mata sebanyak 20 mg dan VNN organ target limpa dan ginjal sebanyak 20 mg dihomogenkan, ditambahkan 900 µL GT Buffer disentrifuge 12.000 rpm selama 3 menit,

diambil sebanyak 600 μ L supernatan dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, supernatan dibuang, ditambahkan 500 μ L GT Buffer untuk mencuci pellet silica, dihomogenkan menggunakan vortex hingga larut. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit supernatan dibuang, ditambahkan 1 mL 70% ethanol dihomogenkan menggunakan vortex, disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, supernatan dibuang, kemudian ditambahkan 100 μ L DEPC ddH₂O dihomogenkan, dan diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit, dihomogenkan dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 2 menit.

a. Deteksi Iridovirus

Deteksi Iridovirus mengacu pada OIE (2009) primer yang digunakan dengan susunan *forward* 1-F 5'-CTC-AAA-CAC-TCT-GGC-TCA-TC-3' dan *reverse* 1-R 5'-GCA-CCA-ACA-CAT-CTC-CTA-TC-3' dengan target berukuran 570 bp (Kurita et al., 1998). Proses amplifikasi dilakukan dengan mencampurkan master mix, primer F dan R, *template* DNA sampel, dan RNase- Freewater, diinkubasi *preheating* denaturasi suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* 58°C selama 60 detik dan *extension* 72°C selama 60 detik (siklus 30 kali) kemudian dilanjutkan dengan *final extension* suhu 72°C selama 5 menit (Kurita et al., 1998). Proses elektroforesis untuk analisis *amplicon* dilakukan pada 1.5% gel agarose yang direndam dalam *Ethidium Bromide* 0.5 mg/mL 1xTAE Buffer dengan kekuatan 100V selama 20- 25 menit.

b. Deteksi VNN

Proses amplifikasi VNN mengacu pada OIE (2009) outer Primer (420 bp) menggunakan forward F2 5'- CGT-GTC-AGT-CAT-GTG-TCG-CT -3' dan reverse R3 5'- CGA-GTC-AAC-ACG-GGT-GAA-GA-3'. Langkah 1: Reverse transcription 50°C selama 30 menit, PCR initial activation 95°C selama 15 menit dan 3-step cycling: denaturasi suhu 94°C selama 40 detik, annealing 55°C selama 40 detik dan extension 72°C selama 40 detik (siklus 35 kali) dilanjutkan final extension 72°C selama 10 menit. Primer nested inner primer (294 bp) menggunakan forward F2 5'- GTT-CCC-TGT-ACA-ACG-ATT-CC -3' dan reverse R3 5'- GGA-TTT-GAC- GGG-GCT-GCT-CA-3'. Langkah 2: PCR initial denaturation 94°C selama 3 menit dan 3-step cycling: denaturasi 94°C selama 40 detik, annealing 50°C selama 40 detik dan extension 72°C selama 40 detik (siklus 35 kali) dilanjutkan final extension 72°C selama 10 menit. Proses elektroforesis untuk analisis amplicon dilakukan pada 1.5% gel agarose yang direndam dalam Ethidium Bromide 0.5 mg/mL 1xTAE Buffer dengan kekuatan 100V selama 25-30 menit.

Sampel yang positif terinfeksi virus dihitung dan dianalisis berdasarkan perhitungan matematik untuk mengetahui nilai prevalensi. Nilai prevalensi digunakan untuk mengetahui banyaknya sampel terinfeksi. Tingkat prevalensi Ikan Kerupu Cantang yang terinfeksi dihitung menggunakan rumus Susanti (2016), kategori nilai prevalensi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Kategori Nilai Prevalensi

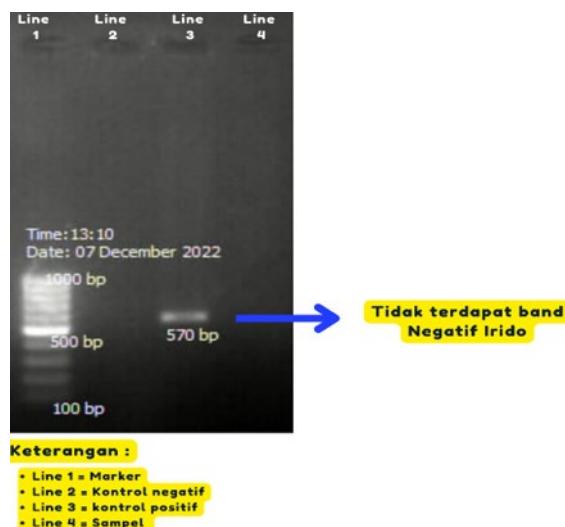
Nilai Prevalensi	Kategori	Keterangan
100 – 99%	Selalu	Infeksi sangat parah
98 – 90%	Hampir selalu	Infeksi parah
89 – 70%	Biasanya	Infeksi sedang
69 – 50%	Sangat sering	Infeksi sangat sering
49 – 30%	Umumnya	Infeksi biasa
29- 10%	Sering	Infeksi sering
9 – 1%	Kadang	Infeksi kadang
< 0,01%	Hampir tidak pernah	Infeksi tidak pernah

Williams dan Williams, (1996)

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil uji Iridovirus

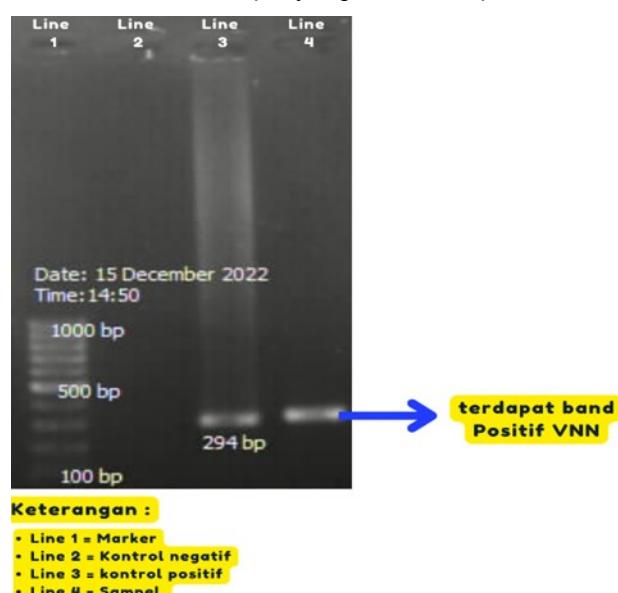
Jumlah sampel untuk dilakukan pengujian Iridovirus sebanyak 23 sampel uji ikan kerapu cantang ukuran 2,5-12 cm dengan organ sampel limpa dan ginjal. Uji PCR pada sampel dinyatakan positif jika terlihat garis perpendaran pita DNA (band) dengan ukuran 570 bp sejajar dengan kontrol positif. Hasil uji iridovirus menunjukkan hasil negatif (**Gambar 1**)



Gambar 1. Sampel Uji Negatif Iridovirus.

3.2 Hasil Uji VNN

Sampel uji VNN sebanyak 23 sampel uji ikan kerapu cantang ukuran 2.5-12 cm dengan organ target otak dan mata. Sampel dinyatakan positif apabila terdapat garis perpendaran pita DNA (*band*) dengan ukuran 294 bp. Hasil UV Gel documentation sampel yang terdeteksi positif VNN disajikan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Sampel Uji Positif VNN.

Gambar 2 menunjukkan sampel ikan kerapu cantang terdeteksi positif VNN ditandai dengan terlihat garis berpendarhan pita DNA (*band*) dengan ukuran 294 bp. Sampel dinyatakan negatif apabila tidak terlihat garis perpendaran pita DNA (*band*) dengan ukuran 294 bp (**Gambar 3**). Hasil uji iridovirus dan VNN disajikan pada **Tabel 2**.



Gambar 3. Sampel Uji Negatif VNN.

Tabel 2. Hasil Uji Iridovirus dan VNN.

Sampel	Ukuran (cm)	Total Sampel	Hasil Uji			
			Iridovirus		VNN	
			(+)	(-)	(+)	(-)
Kerapu cantang	2.5 – 12	23 ekor	0	23	3	20

Berdasarkan **Tabel 2** menunjukkan dari 23 sampel, semua sampel negatif iridovirus, sedangkan hasil uji VNN ditemukan sebanyak 3 sampel uji positif VNN dan 20 sampel uji negatif. Rafael dan Roza (2009) Iridovirus merupakan DNA virus yang diklasifikasikan ke dalam famili iridoviridae, dengan diameter berkisar 120-240 nm, serta berkembang pada sitoplasma sel-sel yang terinfeksi. Secara taksonomi, iridovirus diklasifikasikan menjadi lima genera berdasarkan kisaran inang, ada tidaknya metilasi genom, histologi sel yang terinfeksi, tanda klinis, dan identitas urutan di antara protein virus utama (Chincar et al. 2009). Ikan yang terinfeksi menunjukkan gejala klinis berenang lemah atau diam di dasar air, kadang-kadang seperti tidur, sehingga penyakit ini disebut juga penyakit tidur. Secara histopatologi ditemukan sel-sel yang membesar (*giant cell*) yang merupakan ciri khas infeksi iridovirus pada jaringan haematopoitik dan saluran pencernaan. Virus ini terbukti sangat mudah menular dengan menggunakan air sebagai media penularannya, sehingga ikan yang terserang harus segera dipindahkan dan dipisahkan dari ikan yang sehat (Rafael 2009).

Beberapa tahun terakhir penyakit iridovirus menyebabkan kerugian besar pada industri budidaya ikan kerapu di Sabah, Malaysia. Hasil penelitian menunjukkan status gejala klinis pada budidaya kerapu bahwa ikan terdeteksi dengan gejala sebanyak 15.6% dan 17.4% ikan terinfeksi tanpa gejala (Razak et al. 2014). VNN menyebabkan kematian 100% di larva dan 30% kematian pada ikan dewasa kurang dari 20 hari kegiatan budidaya. Virus dengan ukuran 20-25 nm ini biasanya direplikasi di mata, otak, dan sistem organ saraf, dengan gejala ikan berenang tidak normal, whirling, berada di dasar kolam. Kerapu cantang pada fase larva dan juvenil sangat rentan terhadap infeksi VNN, dapat menyebabkan kematian 90% hingga 100%, wabah terjadi saat fluktuasi suhu antara 20°C-28°C (Yu et al. 2019; Wahyudi et al. 2022).

Viral Nervous Necrosis (VNN) adalah virus Nodaviridae yang menyerang ikan kerapu, terutama pada stadium larva dan benih. Nodaviridae merupakan virus RNA, dengan diameter antara 20 – 25 nm. Penyakit ini paling umum menyerang larva pada umur kurang dari 20 hari. VNN dapat menyebabkan kematian massal hingga mencapai prevalensi 100%. Infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut atau parah, dan terjangkitnya penyakit ini sangat hebat ketika virus menyerang pada ikan yang memiliki kondisi stres akibat kepadatan yang tinggi saat budidaya dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya (Hapsari, 2022). Virus ini biasanya ditemukan pada bagian otak ikan dengan menggunakan mikroskop elektron (mau, 2015).

3.3 Prevalensi

Hasil penghitungan prevalensi menunjukkan bahwa ikan kerapu yang terserang iridovirus menghasilkan prevalensi 0 (nol). Infeksi VNN menghasilkan prevalensi 13,04% dan termasuk dalam katagori infeksi sering (Williams dan Williams, 1996). Kategori Sering dengan rentang nilai 10-29% menunjukkan VNN tersebut sering menginfeksi ikan kerapu cantang pada ukuran 2,5-12 cm.

4.4 Pengamatan Gejala Klinis

Hasil pengamatan gejala klinis pada sampel ikan kerapu cantang tidak menunjukkan gejala klinis ikan terserang Iridovirus maupun VNN. Iridovirus dan VNN dapat dideteksi pada ikan tanpa gejala klinis infeksi, benih terinfeksi biasanya dihasilkan dari indukan melalui transmisi vertical dan terdeteksi positif paling cepat 5 hari setelah penetasan (Hazreen-Nita, et al., 2019). Kerapu merupakan inang bagi Iridovirus dan VNN dengan gejala berenang berputar (Rimmer, et al., 2019). Ikan sakit menunjukkan gejala klinis yang khas dari infeksi iridovirus, seperti tidak nafsu makan dan pembesaran hati dan limpa, dan sejumlah besar kematian terjadi dalam waktu sekitar 7 hari, dengan kumulatif angka kematian sekitar 40% (Xiao, et al. 2019). *Viral Nervous Necrosis* (VNN) merupakan virus Nodaviridae yang menyerang ikan kerapu, terutama pada stadium larva dan benih. Penyakit ini paling umum menyerang larva pada umur kurang dari 20 hari. VNN dapat menyebabkan kematian massal hingga mencapai prevalensi 100%. Infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut atau parah, dan terjangkitnya penyakit ini sangat hebat ketika virus menyerang pada ikan yang memiliki kondisi stres akibat kepadatan yang tinggi saat budidaya dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya (Hapsari, 2022)

4. Kesimpulan

Dendetksi sampel ikan kerapu cantang menunjukkan bahwa semua sampel negatif iridovitus. Sampel terdeteksi positif VNN sebanyak 3 sampel, dan 20 sampel negatif. Tingkat prevalensi virus yang menginfeksi ikan kerapu cantang ukuran 2.5-12 cm sebesar 13.04%.

Daftar Pustaka

- Bachtiar. (2020). Infeksi Megalocytivirus Pada Budidaya Ikan Air Laut Dan Ikan Air Tawar Di Beberapa Provinsi Di Indonesia. *Jurnal Veteriner*, Vol. 21 No. 3 : 423-434.
- Chinchar, V. G., Hyatt, A., Miyazaki, T., & Williams, T. (2009). Family Iridoviridae: poor viral relations no longer. *Lesser known large dsDNA viruses*, 123-170.
- Hapsari, I. (2022). *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu Dan Keamanan Hasil Perikanan.
- Hazreen-Nita, M., Azila, A., Mukai, Y., Firdaus-Nawi, M., & Nur-Nazifah, M. (2019). A review of betanodavirus vaccination as preventive strategy to *viral nervous necrosis* (VNN) disease in grouper. *Aquaculture International*, 27(5), 1565-1577.

- Khumaidi, A., Fadjar, M., Iranawati, F., Kilawati, Y., & Yanuhar, U. (2019). Mass mortality associated with viral nervous necrosis of hybrid grouper (*Epinephelus* sp.) cultured in city of grouper. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2120, No. 1). AIP Publishing.
- Mao, M. G. (2015). Evidence For And Characterization Of Nervous Necrosis Virus Infection In Pacific Cod (*Gadus macrocephalus*). *Arch Virol*, 160:2237–2248.
- OIE. (2009). Manual diagnostic test for aquatic animals. chapter 2.3.7 red sea bream iridoviral disease. *Fish Pathology*, 52(2), 57–62. <https://doi.org/10.3147/jsfp.52.57>
- Othman, A. R. (2015). Effects of Different Salinities on Growth, Feeding Performance and Plasma Cortisol Level in Hybrid (Tiger Grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* x giant Grouper, *Epinephelus lanceolatus*) Juveniles. *International Research Journal Of Biological Sciences*, 15-20.
- Rafael, J. F., & Roza, D. (2009). Kasus Infeksi Virus Irido pada Benih Ikan Kerapu Pasir, *Epinephelus Corallicola* di Hatchery. *Jurnal Perikanan* 8-12.
- Razak, AA, Ransangan J, Sade, A (2014) First report of *megalocytivirus* (Iridoviridae) in grouper culture in Sabah, Malaysia. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 3(3):896–909 .
- Rimmer, M. A., Whittington, R. J., Becker, J. A., Dhand, N. K., Hick, P. M., Mahardika, K., Sembiring, S., Ismi, S., Zafran, Z., Haryanti, Roza, D., Kusumawati, D., Asih, Y. N., Sudewi, Mastuti, I., Wardana, I. K., Murwantoko, Fusianto, C. K., & Fachry, M. E. (2019). Improving fish health management and production protocols in marine finfish aquaculture in Indonesia and Australia. Project number: ACIAR/FIS/2010/101.
- Sembiring, S. B. (2018). Prevalensi Infeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) Dan Iridovirus Pada Hatcheri dan Budidaya Ikan Laut. *Media Akuakultur*, 83-90.
- Susanti, E. (2016). Identifikasi Virus TSV (Taura Syndrome Virus) pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Di Kabupaten Mempawah Hilir Dengan Metode PCR (Polymerase Chain Reuction). Skripsi. Universitas Muhammadiyah Pontianak.
- Wahyudi, D., Suhermanto, A., Atri Triana, K., & Herdianto, T. (2022). Deteksi Parasit Dan Virus pada Pembesaran Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* vs *Epinephelus lanceolatus*). *Jurnal Airaha*, 11(02).
- Wei, J., Huang, Y., Zhu, W., Li, C., Huang, X., & Qin, Q. (2019). Isolation and identification of *Singapore grouper* *iridovirus Hainan* strain (SGIV-HN) in China. *Archives of virology*, 164, 1869-1872.
- Williams, E. H. Jr. & L.B. Williams. (1996). Parasites of offshore big game fishes of Puerto Rico and the western Atlantic. Puerto Rico: Departement of Natural and Environmental Resources University of Puerto Rico.
- Widiartini. (2022). Karakteristik Gejala Klinis Dan Dampak yang Ditimbulkan oleh Parasit *Oodinium* sp. pada Ikan Kerapu Cantang yang Dibudidayakan Dengan Sistem Recirculating Aquaculture System (RAS). *Undergraduate Thesis*. Universitas Pendidikan Ganesha.
- Xiao, H., Liu, M., Li, S., Shi, D., Zhu, D., Ke, K., ... & Li, P. (2019). Isolation and characterization of a ranavirus associated with disease outbreaks in cultured hybrid grouper (♀ Tiger Grouper *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ giant grouper *E. lanceolatus*) in Guangxi, China. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31(4), 364-370.
- Yu, Q., Liu, M., Wei, S., Xiao, H., Wu, S., Qin, X., ... & Li, P. (2019). Isolation of nervous necrosis virus from hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) cultured in Guangxi, China. *Fish Pathology*, 54(1), 16-19.

