

**DETEKSI MOLEKULER PENYAKIT VIRAL NERVOUS NECROSIS (VNN)  
PADA IKAN KERAPU DI WILAYAH KABUPATEN BULELENG  
PROVINSI BALI**

**MOLECULAR DETECTION OF VIRAL NERVOUS NECROSIS (VNN)  
DISEASE ON GROUPEL IN BULELENG REGENCY, BALI PROVINCE**

Rio Aditya Kurniawan<sup>1\*</sup>, Budi Sugianti<sup>1</sup>, Ni Desak Nyoman Pradnyani<sup>2</sup>, Artanti Tri Lestari<sup>2</sup>,  
Anwar<sup>2</sup>, I Nyoman Suardana<sup>2</sup>, Wahyu Nurlita<sup>2</sup>, Imanuddin Razak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Karantina Ikan, Kementerian Kelautan dan Perikanan

<sup>2</sup>Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Denpasar,  
Kementerian Kelautan dan Perikanan

e-mail: rioadityakurniawan@gmail.com

**ABSTRAK**

*Viral Nervous Necrosis (VNN)* merupakan salah satu patogen yang menjadi ancaman budidaya kerapu di seluruh dunia. Infeksi VNN dapat terjadi secara vertikal dan horizontal serta memiliki tingkat mortalitas hingga 100%. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi VNN dengan pendekatan secara molekuler melalui metode PCR pada benih ikan kerapu cantik yang dibudidayakan pada kolam beton di Wilayah Buleleng, Bali. Metode yang digunakan adalah dengan PCR konvensional. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa prevalensi infeksi VNN pada benih ikan kerapu cantik sebesar 25%. Dengan ikan kerapu yang positif VNN menunjukkan gejala berenang berputar, menyendiri dan mata ikan mengalami pembesaran (*exophthalmus*). Pada organ dalam nampak pembesaran limpa dan ginjal. Hepar terlihat pucat serta terjadi hemoraghi pada organ lainnya, sedangkan gambaran histopatologi ikan kerapu yang terinfeksi VNN menunjukkan pada jaringan otak terdapat lesi vakuolisasi, hemoraghi dan nekrosis. Pada jaringan mata nampak vakuolisasi, hemoraghi dan nekrosis sedangkan pada jaringan ginjal mengalami kongesti, vakuolisasi dan pembengkakkan..

**Kata kunci:** Bali; betanodavirus; kerapu molekuler; PCR; VNN

**ABSTRACT**

*Viral Nervous Necrosis (VNN)*. is a pathogen that poses a threat to grouper aquaculture worldwide. VNN infection can occur vertically and horizontally and has a mortality rate of up to 100%. This study aimed to detect VNN using a molecular approach through the PCR method on beautiful grouper seeds cultivated in concrete ponds in the Buleleng Region, Bali. The method used is conventional PCR. The results of this study indicate that the prevalence of VNN infection in beautiful grouper fingerlings is 25%. Grouper fish that are positive for VNN show symptoms of rotating, solitary swimming and enlargement of the fish's eyes (*exophthalmus*). The internal organs show enlargement of the spleen and kidneys. The liver looks pale and hemorrhagic occurs in other organs, while the histopathological picture of grouper infected with VNN shows that the brain tissue has vacuolization lesions, hemorrhagic and necrosis. The eye tissue shows vacuolization, hemorrhagic and necrosis while the kidney tissue has congestion, vacuolization and swelling.

**Keywords:** Bali; betanodavirus grouper; molecular; PCR; VNN

## PENDAHULUAN

Kerapu merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang diunggulkan serta memiliki nilai ekonomi yang tinggi dimana potensi lestari (MSY) ikan kerapu sebesar 259,1 ton/tahun (Santoso, 2016). Salah satu sentra budidaya kerapu di Indonesia adalah Pulau Bali. Pulau Bali yang memiliki ibu kota di Denpasar termasuk dalam kepulauan Sunda Kecil dan letak geografis pada 08°03'40" -08°50'48" Lintang Selatan (LS) dan 114°25'53" -115°42'40" Bujur Timur (BT). Komoditas utama budidaya yang dikembangkan yaitu ikan kerapu dan kakap dengan nilai produksi kerapu berkisar 190.5 ton untuk benih kerapu dan 47 ton untuk kerapu pembesaran dan 652,6 ton kerapu konsumsi (Dinas KP Buleleng, 2017). Beberapa spesies ikan kerapu saat ini sudah dikembangkan dengan cara hibridisasi. Salah satu kerapu hasil hibridisasi adalah kerapu cantik (Sembiring *et al.*, 2018) dan saat ini umumnya dibudidayakan di Bali.. Kerapu cantik merupakan hasil persilangan antara kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) sebagai induk betina dengan kerapu batik (*Epinephelus microdon*) sebagai induk jantan (Ismi *et al.*, 2014). Permasalahan yang sering dihadapi oleh pembudidaya kerapu adalah penyakit, salah satunya yang sering ditemukan adalah infeksi oleh *Viral Nervous Necrosis* (VNN) atau *Viral Encephalopathy and Retinopathy* (VER). Infeksi VNN ditandai dengan nekrosis vakuolar sel yang ditemukan di otak, retina dan sum-sum tulang belakang dan dapat menyebabkan mortalitas 100% pada benih (Nurkhozin *et al.*, 2022). Ikan yang terinfeksi oleh VNN diantaranya memiliki gejala ikan terlihat lemah, berenang tidak beraturan, terbalik, dan berputar. Tingkat kematian ikan akibat infeksi VNN pada budidaya kerapu dapat mencapai 100% dan menyerang ikan kerapu pada semua stadia (stadia larva hingga benih) (Balai Budidaya Laut, 2020).

*Viral Nervous Necrosis* (VNN) merupakan virus yang termasuk dalam famili Nodaviridae berbentuk *icosahedral*, tidak memiliki amplop, memiliki ukuran diameter 20-30 nm serta memiliki dobel *strand positive-sense* RNA (RNA 1 dan RNA 2). Menurut Low *et al.* (2017) RNA 1 mengkode RNA dependent RNA polymerase (RdRp) yang bertanggungjawab pada replikasi virus dan enzim mitokondria sedangkan RNA 2 mengkode protein kapsid (Wu, 2016). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi VNN dengan pendekatan secara molekuler melalui metode PCR pada benih ikan kerapu cantik yang dibudidayakan di kolam beton di Wilayah Buleleng, Bali.

## METODE

Sampel penelitian ini adalah ikan kerapu cantik yang diperoleh dari kolam budidaya kerapu di Desa Penyabangan, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng Provinsi Bali dan pengujian dilakukan di Laboratorium Penguji Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (Balai KIPM) Denpasar. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode penelitian deskriptif observasional. Metode penelitian deskriptif adalah penelitian yang dimaksudkan untuk menyelidiki suatu kondisi, keadaan atau hal lain-lain yang telah disebutkan dan hasilnya dipresentasikan dalam bentuk laporan penelitian (Suharsimi, 2019). Metode penghitungan data yang digunakan adalah menentukan penghitungan prevalensi. 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:

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Ikan sampel yang terinfeksi VNN}}{\text{Total ikan sampel diperiksa}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

## Ekstraksi RNA

Proses ekstraksi mengacu pada Instruksi Kerja Pengujian *Viral Nervous Necrosis* Laboratorium Balai KIPM Denpasar. Sampel jaringan ikan kerapu yang digunakan adalah mata dan otak sebanyak 20 mg. Metode ekstraksi menggunakan metode presipitasi. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi yaitu larutan RNA extraction, Chloroform, Isopropanol, Ethanol dan larutan DPEC ddH<sub>2</sub>O. Tahapan ekstraksi sesuai manual yaitu sampel dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml yang telah berisi 0,5 ml larutan *RNA Extraction*. Kemudian sampel digerus dengan *paste* dan didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang. Ditambahkan 100 µl *Chloroform*, kemudian divortex selama 20 detik lalu didiamkan pada suhu ruang selama 3 menit dan dicentrifuge pada 12000 rpm selama 15 menit. Kemudian supernatant dipindahkan sebanyak 200 µl ke dalam *microtube* 1,5 ml baru yang sudah berisikan 200 µl 2-Propanol (Isopropanol). Campur dengan memvortex sesaat, kemudian dicentrifuge pada 12000 rpm selama 10 menit dan supernatannya dibuang. Pelet di cuci dengan 500 µl Ethanol 75% lalu dicentrifuge pada 9000 rpm selama 5 menit, etanolnya dibuang kemudian kering anginkan. Pelet dilarutkan dengan 200 µl DPEC ddH<sub>2</sub>O untuk sampel mata, otak dan sampel hasil ekstraksi siap untuk di lakukan amplifikasi PCR.

## Amplifikasi

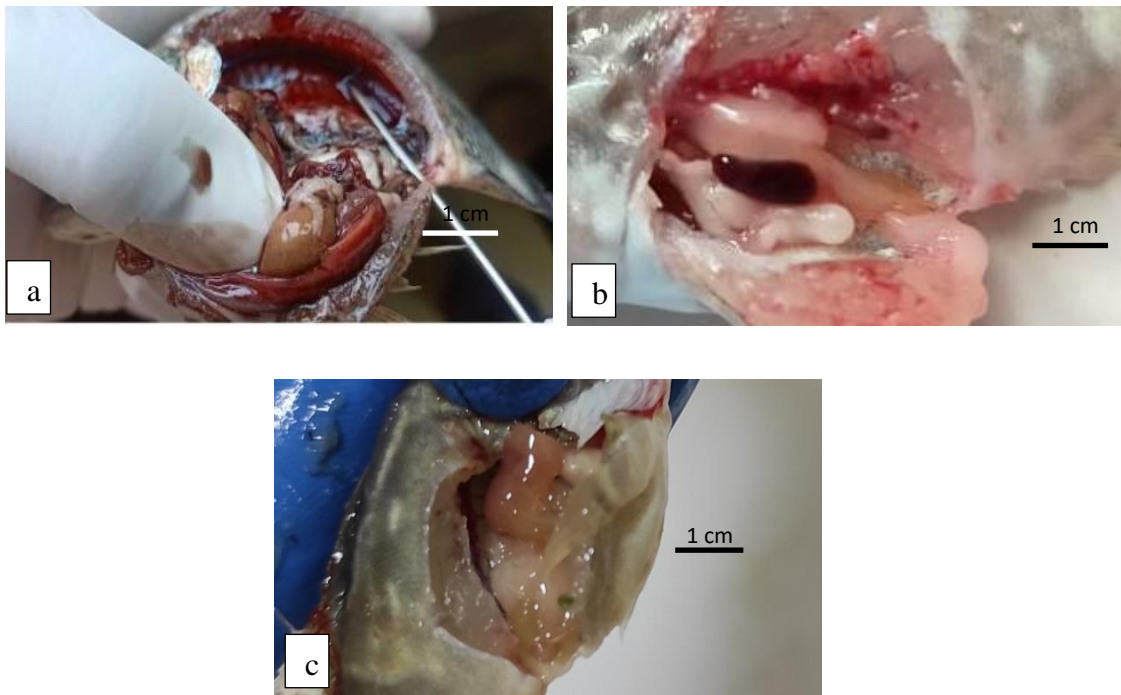
Amplifikasi menggunakan metode RT-PCR dengan menggunakan master mix MyTaq One-Step RT-PCR Kit (Bioline, United Kingdom), RT-PCR enzim, *nuclease free water*, *template* (hasil ekstraksi) dan primer VNN F 5'-CAACTGACAACGATCACACCTTC-3' dan primer VNN R 5'-CAATCGAACACTCCAGCGACA-3' yang menghasilkan produk PCR 230 bp (OIE, 2019). Proses amplifikasi merujuk pada Instruksi Kerja Pengujian *Viral Nervous Necrosis* Laboratorium Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Denpasar yang meliputi tahapan *reverse-transcription* 48°C selama 30 menit dan 94°C selama 2 menit, diikuti dengan tahap amplifikasi 35 siklus (denaturasi 94°C selama 45 detik, annealing 58°C selama 45 detik dilanjutkan ekstensi 72°C selama 45 detik) dan tahap ekstensi akhir 72°C selama 45 detik. Hasil PCR selanjutnya dilihat secara visual dengan cara elektroforesis menggunakan 1,5% gel agarose dan menggunakan zat pewarna *SYBR Green* 0,5 µg/ml. DNA Marker yang digunakan adalah 100bp dan sampel menunjukkan positif VNN bila terlihat pita band pada 230 bp. Data dianalisis dengan cara deskriptif yang membandingkan hasil pengamatan gejala klinis, dan hasil dikonfirmasi melalui pengujian RT-PCR.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ikan kerapu cantik yang terinfeksi oleh VNN terlihat memiliki gejala dan perubahan pada organ dalam diantaranya ikan berenang berputar, menyendiri dan mata ikan mengalami pembesaran (*exophthalmus*). Pada organ dalam nampak pembesaran limpa dan ginjal. Hepar terlihat pucat serta terjadi *haemoraghi* pada organ lainnya. Gambaran perubahan organ dalam seperti pada Gambar 1 dan 2.

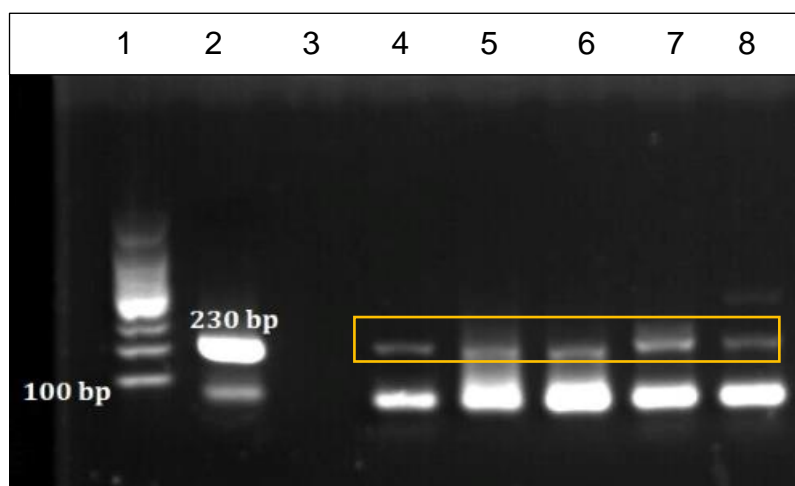


**Gambar 1. *Exopthalmus* pada benih ikan kerapu cantik yang terinfeksi VNN menunjukkan exophthalmus/***Figure 1. Exopthalmus on cantik Grouper Fry Infected with VNN*



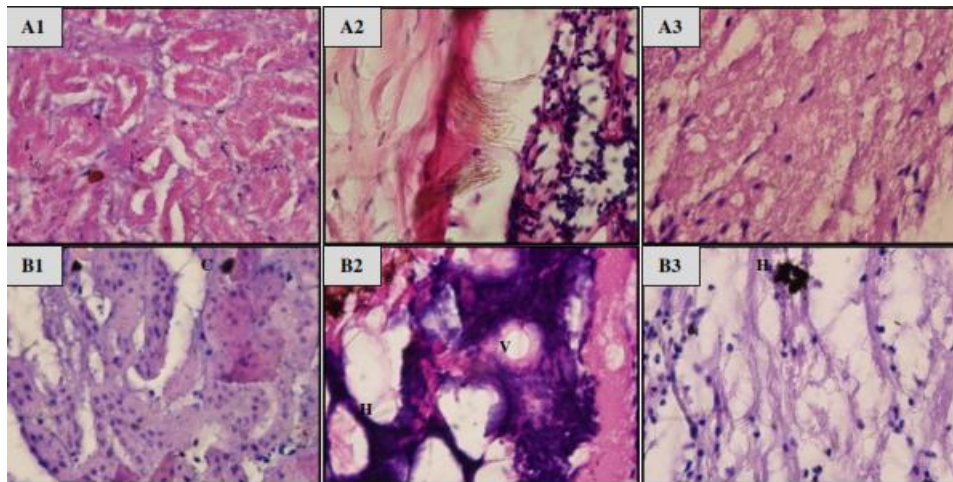
**Gambar 2. Organ dalam ikan kerapu yang terinfeksi VNN. (a). ginjal dan hepar yang membesar; (b) limpa membesar; (c) hati nampak pucat./Figure 2. Internal Organs of grouper infected with VNN. (a) enlarged kidney and liver; (b) enlarged spleen; (c) liver looks pale**

Banyak metode molekuler yang telah digunakan untuk mendiagnosis VNN pada ikan. Metode ini merupakan metode yang cocok terutama dari segi kecepatan, sensitivitas dan spesifisitas dalam diagnosis VNN, termasuk metode konvensional atau *nested Polymerase Chain Reaction (PCR)* (Mu *et al.*, 2013), *realtime PCR (qPCR)* (Baud *et al.*, 2015 ; Mekata *et al.*, 2015) dan sekuensing asam nukleat (NASBA) (Robert, 2017). *Nested PCR* adalah salah satu teknik PCR yang menggunakan dua set primer yang memiliki spesifisitas berbeda. Kedua pasang primer tersebut digunakan pada tahapan PCR yang terpisah sehingga dilakukan lebih dari satu kali PCR dengan tujuan meningkatkan spesifisitas dan mengurangi pengikatan non-spesifik dari produk PCR (Michael & Joseph, 2019) Pengujian secara molekuler dengan metode konvensional PCR dilakukan untuk mengkonfirmasi infeksi VNN pada sampel ikan kerapu cantik. Hasil pengujian VNN dengan metode PCR pada 20 sampel ikan kerapu cantik terlihat pada Gambar 3. Pada gambar 3 nampak kelima sampel menunjukkan hasil positif VNN dengan muncul pita/*band* di 230 bp sesuai dengan kontrol positif. Setelah diketahui jumlah yang terinfeksi, selanjutnya dihitung prevalensi VNN. Hasil dari perhitungan prevalensi serangan VNN pada sampel ikan kerapu cantik dari Kabupaten Buleleng adalah sebesar 25% dengan rincian dari 20 sampel ikan kerapu cantik yang diambil, terdeteksi VNN sebanyak 5 (lima) ikan kerapu cantik.



**Gambar 3. Hasil visualisasi PCR pada sampel kerapu cantik positif VNN. Lane (1). Marker 100bp; (2) kontrol positif VNN; (3) kontrol negatif; (4) sampel a; (5) sampel b; (6) sampel c; (7) sampel d; (8) sampel e./Figure 3. PCR visualization results on VNN positive grouper samples. Lanes (1). Markers 100bp; (2) VNN positive control; (3) negative control; (4) sample a; (5) sample b; (6) sample c; (7) sample d; (8) sample e**

Betanodavirus atau yang lebih dikenal VNN menyerang sistem pertahanan ikan serta bereplikasi secara cepat pada sel-sel hospes dan dapat bersembunyi sehingga hospes terinfeksi serta menularkan baik secara vertikal maupun horizontal (Costa and Thompson, 2016 ; Nunez-Ortiz *et al.*, 2016). Infeksi VNN dapat terjadi pada semua fase hidup ikan kerapu dengan organ target ginjal, mata dan otak. Salah satu gejala yang khas ikan terinfeksi VNN adalah ikan menunjukkan perilaku berputar dan mata mengalami exophtalmia, hal ini diakibatkan karena virus menyerang sistem syaraf pusat (Zorriehzahra, 2019). Pemeriksaan secara histopatologi dilakukan untuk mengetahui perubahan jaringan ikan yang terinfeksi VNN, salah satunya yang dilakukan oleh Yanuhar *et al.* (2020) seperti yang ada pada Gambar 4. Pemeriksaan histopatologi pada ikan yang terinfeksi VNN menunjukkan bahwa pada jaringan otak terdapat lesi vakuolisasi, hemoraghi dan nekrosis. Pada gambaran histopatologi jaringan mata nampak vakuolisasi, hemoraghi dan nekrosis sedangkan pada jaringan ginjal mengalami kongesti, vakuolisasi dan pembengkakan.



**Gambar 4. Gambaran histologi pada kerapu sehat (A) dan ikan yang terinfeksi VNN (B) dengan organ ginjal (1), mata (2) dan otak (3); Vakuolisasi (V), Hemoraghi (H), kongesti (C)./ Figure 4. Histological features of healthy grouper (A) and VNN-infected fish (B) with kidney (1), eye (2) and brain (3); Vacuolization (V), Haemorrhagic (H), congestion (C)**

**Sumber: Yanuhar et al., (2020)/Source: Yanuhar et al., (2020)**

Infeksi VNN pada ikan tidak hanya menyerang sistem syaraf pusat, namun juga menyerang sistem reproduksi ikan (gonad) sehingga menyebabkan kegagalan reproduksi, menurunkan daya tetas dan meningkatkan kematian pada larva ikan. Kejadian infeksi VNN diseluruh dunia sangat tinggi dan kemungkinan adanya ikan sakit yang tanpa menunjukkan gejala. Virus VNN sangat tahan di dalam lingkungan perairan sehingga sangat sulit untuk diberantas, oleh karena itu mengetahui jalur penularan VNN sangat penting untuk strategi pengendaliannya. Costa and Thompson (2016) menyatakan bahwa indukan dan larva ikan dapat menjadi repertoar virus VNN tanpa menimbulkan gejala (asimptomatik) yang bertanggungjawab pada transmisi horizontal. Penularan VNN secara vertikal dapat dikontrol melalui pemilihan indukan yang bebas VNN dan pemisahan indukan yang terinfeksi VNN sehingga dapat mencegah masuknya VNN saat di tempat penetasan (Costa and Thompson, 2016). Program biosekuriti wajib diaplikasikan di seluruh fasilita, sarana dan prasarana dan faktor pendukung lainnya dalam budidaya ikan kerapu untuk mencegah infeksi/penularan VNN (Novriadi, 2015).

## **KESIMPULAN**

Diagnosis *Viral Nervous Necrosis* (VNN) di Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali pada ikan kerapu cantik ditemukan pada 5 (lima) sampel ikan kerapu cantik dari 20 (dua puluh) sampel yang diuji dengan metode molekuler (PCR). Ikan yang positif VNN

menunjukkan gejala ikan berenang berputar, menyendiri dan mata ikan mengalami pembesaran (*exophthalmus*). Pada organ dalam nampak pembesaran limpa dan ginjal. Hepar terlihat pucat dan terjadi hemoraghi pada organ lainnya. Gambaran histopatologi ikan kerapu yang terinfeksi VNN menunjukkan pada jaringan otak terdapat lesi vakuolisasi, hemoraghi dan nekrosis. Pada jaringan mata nampak vakuolisasi, hemoraghi dan nekrosis sedangkan pada jaringan ginjal mengalami kongesti, vakuolisasi dan pembengkakan

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Pusat Karantina Ikan dan Kepala Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Denpasar yang telah mengizinkan kami menyusun karya ilmiah ini sehingga dapat memberikan manfaat kepada masyarakat luas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bradley T L and Nicole M. (2023). Outbreak! Investigation guidelines for aquatic animal diseases events. Fisheries Research and Development Corporation. Melbourne. Agriculture Victoria.
- Balai Budidaya Laut Lampung. (2020). Pengelolaan Kesehatan Ikan Budidaya Laut. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Bandar Lampung
- Baud, M., Cabon, J., Salomoni, A., Toffan, A., Panzarin, V. & Bigarré, L., (2015). First generic one step real -time Taqman RT -PCR targeting the RNA1 of betanodaviruses. Journal of Virological Methods, 211, 1 -7.
- Costa J Z & Thompson KD. (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.
- Dinas Perikanan dan Kelautan, Kabupaten Buleleng (2017). Data statistik Dinas Perikanan Kabupaten Buleleng Tahun 2017. Diakses pada 24 Juli 2023 dari <https://bulelengkab.go.id/assets/instansikab/126/bankdata/datastatistikdinasperikanan-kabupaten-buleleng-15.pdf>
- Ismi S, Yasmina N A & Daniar K. (2014). Peningkatan Produksi dan kualitas Benih Kerapu dengan Program Hybridiasi. Jurnal Oseanologi Indonesia Vol 1, No.1, Maret 2014.

- Low, C. F. C., Nataqain, S. B., Chee, H. Y., Rozaini, M. Z. H., & Najiah, M. (2017). Betanodavirus Dissection of the viral lifecycle. *Journal of Fish Diseases*, 40, 1–8.
- Michael, R, G & Joseph S. (2019). Nested Polymerase Chain Reaction (PCR). Cold Spring Harb Protoc 2019.10.1101/pdb.prot095182.
- Mekata, T., Satoh, J., Inada, M., Dinesh, S., Harsha, P., Itami, T. & Sudhakaran, R., (2015). Development of simple, rapid and sensitive detection assay for grouper nervous necrosis virus using real-time loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Fish Diseases*, 38, 873 -879.
- 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.*
- Núñez-Ortiz N, Pascoli F, Picchiatti S, Buonocore F, Bernini C & Toson M. A. (2016) formalin-inactivated immunogen against viral encephalopathy and retinopathy (VER) disease in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): immunological and protection effects. *Vet Res.* 2016;47:89.
- Nurkhozin A A, D S Achmad, N S Bakti, I A Yasin & S R A Natsir. (2022). Prevalensi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Pada ikan Kerapu Ekor Bulan (*Variola sp*) di Perairan Gorontalo. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*, Vol. 4(3): 99-108, Desember 2022.
- OIE. 2019. Chaptire 2.3.12. Viral Encephalopathy and Retinopathy. *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*
- Robert, E,F Jr. (2017). Chapter 8- RT-PCR: A Science and an Art Form. *RNA Methodologies (Fifth Edition). Laboratory Guide for Isolation and Characterization.* United States: Academic Press.
- Santoso, D. (2016) Potensi Lestari dan Status Pemanfaatan Ikan kakap Merah dan Ikan Kerapu di Selat Alas Propinsi Nusa Tenggara Barat. *JUrnal Biologi Tropis*, Januari 2016: Vol 16 (1): 15-24.
- 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. *Medua Akuakultur*, 13(2), 83.
- Suharsimi, A. (2019). *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik.* Jakarta: Rineka Cipta
- Starkey, W.G., Millar, R.M., Jenkins, M.E., Ireland, J.H., Muir, K.F. & Richards, R.H., (2004). Detection of piscine nodaviruses by real-time nucleic acid sequence based amplification (NASBA). *Diseases of Aquatic Organisms*, 59, 93 -100.
- Terlizzi A, Tedesco P, & Patarnello P. (2012) Spread of pathogens from Marine cage aquaculture – A potential threat for wild fish assemblages under protection regimes? *Health Environ Aquac.* 2012; 403-414.

- Wu , Y . C ., Tsai , P . Y ., Chan , J . C . & Chi , S .C. (2016) . Endogenous grouper and barramundi Mx proteins facilitated the clearance of betanodavirus RNA - dependent RNA polymerase. *Developmental and Comparative Immunology* , 59, 110 - 120.
- Yanuhar U, D Arfiati, M Musa, Kusriani, N S Junirahma & N R Caesar. (2020). The Status of VNN (Viral Nervous Necrosis)-Infected Grouper Fish Tissue with *Chlorella vulgaris* Extract as Anti-Virus Candidate. *Journal of Physics: Conference Series* 1665(2020)012036
- Zorriehzahra MJ, Adel M, Dadar M, Ullah S, & Ghasemi M. (2019). Viral Nervous Necrosis (VNN) an emerging disease caused by Nodaviridae in aquatic hosts: Diagnosis, control and prevention: A review. *Iran J Fish Sci.* 2019:1-18