

Prevalence Analysis of *Hypodermal Infectious and Haematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV) in Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Bengkalis District

Adzra Ariesta Fahmi^{1*}, Feliatra¹, Irwan Effendi¹, Nanang Muhson²

¹Department of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Riau

²Sultan Syarif Kasim II Class I Fish Quarantine Station, Pekanbaru

Corresponding Author: fadzraariesta@gmail.com

Diterima/Received: 11 August 2022; Disetujui/Accepted: 01 September 2022

ABSTRACT

The disease is a limiting factor and causes economic losses in the cultivation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Diseases in vaname shrimp are caused by viruses, microbes, parasites, organisms, and natural conditions. One of these diseases is *infectious hypodermal and hematopoietic necrosis* (IHHNV). This study was conducted from February to April 2022. This study aimed to analyze the prevalence of IHHNV that attacks white shrimp in the Bengkalis Regency and to observe and observe clinical symptoms in whitewashed shrimp infected with IHHNV in the pond area of the Bengkalis Regency. The research method used in this study is a survey method. The primary data taken included water quality observations, morphological observations, sampling, and detection of IHHNV using the polymerase chain reaction (PCR) method. The results showed that the prevalence of IHHNV in white shrimp was 0%. PCR testing using a specific primer measuring 392bp showed that white shrimp samples from three locations in Bengkalis District, namely Bengkalis District, Bukit Batu District, and Rupert District, were negative for IHHNV and did not show any clinical symptoms of IHHNV on morphological examination.

Keywords: Disease, IHHNV, white shrimp, the prevalence

1. PENDAHULUAN

Udang vaname atau udang kaki putih (*Litopenaeus vannamei*) merupakan komoditas unggulan yang banyak diminati untuk dibudidayakan saat ini dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Ketahanan udang vaname terhadap penyakit yang menyerang udang pada umumnya membuatnya banyak diminati oleh para pembudidaya dan petambak udang di Indonesia. Beberapa keunggulan udang vaname antara lain yaitu kemampuan untuk merespons pakan yang diberikan atau nafsu makan yang tinggi, ketahanan terhadap serangan penyakit dan lingkungan yang tidak menguntungkan (Mahardika *et al.*, 2020).

Pada budidaya vaname, penyakit merupakan faktor pembatas dan merupakan penyebab penting kerugian ekonomi. Penyakit pada udang vaname disebabkan oleh virus, mikroba, parasit, organisme, dan kondisi alam. Salah satu penyakit tersebut adalah *infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus* (IHHNV). IHHNV adalah parvovirus 20-22 nm, icosahedral, tidak berselubung yang

mengandung genom DNA untai tunggal, panjangnya sekitar 4,1 kb, dengan tiga kerangka baca terbuka (Hernández-Ruíz *et al.*, 2020).

Beberapa tahun terakhir total produksi udang di Indonesia mengalami penurunan, pada tahun 2012 total produksi udang menurun dari 1.900 ton menjadi 1.025 ton, virus diduga menjadi patogen yang memicu penyakit pada udang (Aulia *et al.*, 2019). Keberadaan IHHNV pada udang vaname akan membawa dampak yang besar pada penurunan produksi budidaya udang vaname. Salah satu tindakan pencegahan penyebaran virus adalah penyebaran udang bebas virus. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian atau deteksi dini di area pertambakan Kabupaten Bengkalis, agar diketahui seberapa besar tingkat serangan IHHNV sehingga upaya-upaya untuk pencegahan terhadap serangan IHHNV dapat dilakukan dengan baik dan maksimal.

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan

Februari-April 2022. Sampel udang vaname diambil dari Kecamatan Rupat, Kecamatan Bengkalis, dan Kecamatan Bukit Batu Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau. Kemudian pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Pekanbaru.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei. Data yang dikumpulkan berupa data primer dan data sekunder. Data primer tersebut merupakan data dari hasil survei dan observasi langsung selama penelitian. Data primer yang diambil meliputi berbagai hal, mulai dari pengamatan kualitas perairan, pengamatan morfologi, pengambilan sampel sampai deteksi virus udang yang diteliti dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sedangkan, data sekunder diperoleh dari referensi yang relevan seperti, penelitian-penelitian terdahulu, buku, jurnal, artikel, dan laporan instansi terkait.

Prosedur Penelitian

Pengukuran Parameter Kualitas Air Tambak

Parameter kualitas perairan yang diamati pada penelitian ini ada tiga parameter meliputi suhu, pH, dan salinitas. Waktu pengambilan dilakukan bersamaan saat pengambilan sampel udang vaname di permukaan perairan dengan sekali pengambilan data pada masing-masing lokasi pengambilan sampel.

Penanganan Sampel

Sampel udang vaname dari masing-masing lokasi diukur panjangnya kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel yang berisi larutan fiksatif, larutan fiksatif yang digunakan adalah alkohol 70%. Proses fiksasi dilakukan untuk menghindari kerusakan sel karena kondisi *postmortem*. Sampel udang vaname dari lokasi akan diuji di laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Pekanbaru.

Ekstraksi DNA

Untuk mengetahui keberadaan virus IHNV terlebih dahulu dilakukan proses ekstraksi DNA menggunakan metode ekstraksi DTAB/CTAB. Organ target yang diambil, yaitu insang, kaki renang, hepatopankreas, dan ekor. Organ target dikeringkan di tisu, sebanyak 0,02

g organ target dimasukkan ke dalam mikrotube berisi 600 μL larutan DTAB *solution* kemudian digerus. Sampel dalam *tube* yang berisi DTAB *solution* di inkubasi pada *heating block* dengan suhu 75 °C selama 5 menit dan dinginkan pada suhu ruang. Sebanyak 700 μL kloroform ditambahkan, *vortex* 20 detik. Kemudian sentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit.

Proses sentrifugasi dengan kecepatan tinggi akan menghasilkan endapan atau bisa disebut pellet (DNA) dan menempel di dasar *microtube*. Larutan jernih bagian atas diambil sebanyak 200 μL ke dalam *tube* baru. Sebanyak 100 μL C *tab solution* dan 900 μL DEPC.ddH₂O ditambahkan, kemudian *vortex*. Sampel di inkubasi pada suhu 75 °C selama 5 menit dan dinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm, selama 10 menit. Supernatan dibuang dan keringkan ± 2 menit. Setelah itu, pellet dilarutkan dengan 150 μL *dissolving solution* dan diinkubasi di suhu 75 °C selama 5 menit dan didinginkan pada suhu ruang.

Selanjutnya disentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit. 300 μL *ethanol* 95% disiapkan dalam *tube* baru. Bagian atas yang jernih diambil sebanyak 100 μL dan dimasukkan ke dalam 300 μL *ethanol* 95%. *Vortex* ± 20 detik, sentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit dan supernatan dibuang menyisakan pellet. Pellet dikeringkan, kemudian ditambahkan 50 μL DEPC.ddH₂O. *Template* DNA yang dihasilkan disimpan pada suhu -20 °C hingga akan di amplifikasi.

Amplifikasi DNA

Tahapan dalam melakukan amplifikasi yaitu, setelah diperoleh *template* dari ekstraksi DNA, dilakukan amplifikasi dengan *thermal cycler*. Dipersiapkan *master mix* dengan volume 23 μL per satu reaksi. Reagen *single PCR IHNV* terdiri dari; 12,5 μL *go taq green*, 8,5 μL *nuclease free water*, 1 μL primer F, dan 1 μL primer R. Campuran *master mix* ditambahkan 2 μL DNA *template* sehingga total reaksi untuk satu sampel adalah 25 μL . Campuran reaksi PCR yang terdiri atas *master mix* dan *template* siap untuk di amplifikasi. Amplifikasi DNA dilakukan sebanyak 35 siklus, agar DNA target dapat terlihat ketika dilakukan elektroforesis.

Elektroforesis

Elektroforesis gel digunakan untuk memvisualisasikan produk PCR yang

dihasilkan, dan munculnya pita gel PCR dengan bp yang tepat menunjukkan deteksi positif (Evans dan Lamberti, 2018). Amplikon dielektroforesis pada gel agarose yang direndam dengan larutan TAE buffer. Sebanyak 75 g agarose dilarutkan dengan 50 mL TAE Buffer yang, menggunakan microwave hingga mendidih dan tidak ada agarose yang mengendap. Diamkan selama kurang lebih 10 menit hingga suhunya kurang lebih 50°C, 5 µL *sybro safe* ditambahkan. Agarose tersebut dicetak pada *tray* agarose yang telah dilengkapi dengan sisir. Setelah agarose dingin dan mengeras, sisir *tray* pada cetakan agarose tersebut diangkat dan dimasukkan ke dalam elektroforesis apparratus yang berisi TAE 1x. Pada sumur yang telah terbentuk dimasukkan amplikon secara berurutan, kontrol negatif, sampel, kontrol positif, dan marker DNA 100bp masing-masing sebanyak 5 µL. Lalu gel agarose dialiri arus listrik dengan tegangan 100 volt selama 30 menit

Visualisasi DNA

Visualisasi DNA dilakukan dengan cara dokumentasi sampel yang telah di PCR. Untuk mengetahui ada tidaknya infeksi virus IHHNV terhadap sampel-sampel yang dideteksi maka gel hasil elektroforesis diamati menggunakan UV transiluminator yang sekaligus dilakukan pengambilan gambar. Setelah UV *Transluminator* dinyalakan, pita DNA akan berpendar. Hasil dari sampel dapat dilihat dilayar monitor yang terhubung dengan UV *Transluminator*. *Band* atau pita DNA yang muncul pada sampel dibandingkan dengan *band* yang muncul pada kontrol positif. Sampel yang terinfeksi IHHNV menghasilkan pita pada ukuran 392bp dan sejajar dengan pita DNA dari positif kontrol.

Parameter yang Diamati

Parameter utama yang diamati yaitu prevalensi virus yang menyerang udang vaname, parameter pendukung yaitu melihat gejala klinis udang vaname sebelum dilakukan pemeriksaan. Sampel udang vaname yang positif terinfeksi virus kemudian dihitung dan

dianalisa berdasarkan perhitungan matematik untuk mengetahui menilai prevalensi. Nilai prevalensi digunakan untuk mengetahui banyaknya udang yang terinfeksi virus. Prevalensi dapat dihitung menggunakan rumus menurut Cameron (2002).

$$\text{Prevalensi (\%)} = \frac{\sum \text{udang terinfeksi}}{\sum \text{sampel udang}} \times 100 \%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil deteksi IHHNV ditampilkan dalam bentuk gambar hasil visualisasi DNA kemudian disajikan dalam bentuk grafik dimana grafik tersebut menggambarkan tingkat prevalensi pada lokasi penelitian. Kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menjelaskan nilai prevalensi virus yang menginfeksi udang vaname berdasarkan referensi yang relevan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter Kualitas Perairan Tambak

Hasil pengukuran parameter lingkungan yang dilakukan pada tambak udang vaname di Kabupaten Bengkalis menunjukkan bahwa nilai salinitas berada pada kisaran 22-24 ppt. Salinitas terendah terdapat pada Kecamatan Bengkalis sedangkan salinitas tertinggi terdapat pada Kecamatan Bukit Batu dan Rupat. Kisaran suhu terendah terdapat pada Kecamatan Bengkalis dengan nilai sebesar 28°C sedangkan nilai tertinggi pada kecamatan Rupat yaitu sebesar 30°C. Nilai pH yang didapatkan pada tiga lokasi sampel yaitu 6 (Tabel 1).

Tabel 1. Data Kualitas Air Selama Penelitian

Kecamatan	pH	Suhu (°C)	Salinitas (ppt)
Bengkalis	6	28	22
Bukit Batu	6	29	24
Rupat	6	30	24

Pertumbuhan yang baik bagi udang vaname yaitu berada pada kondisi lingkungan air yang optimal berdasarkan syarat standar baku mutu air tambak. Kisaran nilai optimum dari kualitas air yang baik untuk pertumbuhan udang vaname dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan dengan Kelayakan Pustaka Budidaya Udang Vaname

No	Parameter Kualitas Air	Nilai Optimum Kualitas Air	Nilai Hasil Pengamatan
1	Salinitas (ppt)	15-30 (Salsabiela, 2020)	22-24
2	Suhu (°C)	26-30 (Oktavian <i>et al.</i> , 2019)	28-30
3	pH	6-9 (Nurhidayati <i>et al.</i> , 2021)	6

Budidaya intensif dicirikan dengan padat tebar tinggi, penggunaan pakan buatan, sarana prasarana budidaya yang lebih komplit, serta manajemen budidaya yang lebih modern. Keberhasilan produksi budidaya udang intensif, sangat ditentukan oleh faktor lingkungan, inang (*host*), dan sebaran patogen (Ponce-Palafox *et al.*, 2019). Faktor lingkungan dalam budidaya adalah nilai kapasitas parameter fisika, kimia, dan biologi perairan atau yang disebut juga dengan parameter kualitas. Parameter kualitas air dalam ekosistem tambak, memainkan peranan penting terhadap tingkat produktifitas budidaya (Ariadi *et al.*, 2021).

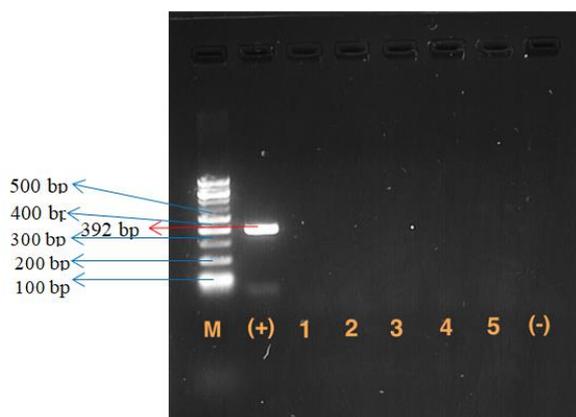
Pengukuran Morfologi Udang Vaname (*L.vannamei*)

Hasil pengukuran panjang pada udang vaname didapatkan hasil terkecil pada kode sampel I/5B yang berasal dari Kecamatan Bengkalis dengan panjang 6,5 cm sedangkan ukuran udang vaname terpanjang terdapat pada kode sampel I/2R dan I/5R yang berasal dari kecamatan Rupert dengan panjang 12 cm (Tabel 3). Perbedaan ukuran udang yang signifikan disebabkan umur udang vaname pada setiap lokasi penelitian berbeda-beda yaitu, pada kecamatan bengkalis berumur 35 hari, pada kecamatan Bukit Batu berumur 50 hari, dan pada kecamatan Rupert berumur 55 hari.

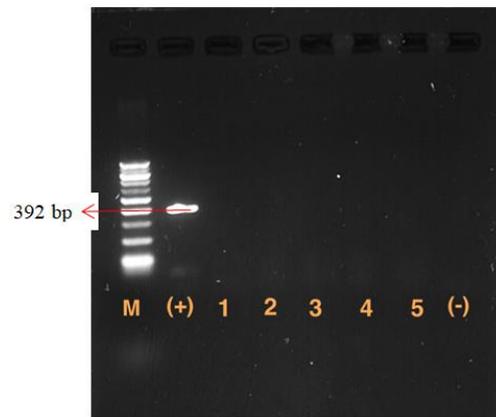
Tabel 3. Identifikasi Morfologi Udang Vaname (*L. vannamei*)

No	Kode Sampel	Panjang (cm)	Penampakan Morfologi Udang Vaname	
			Warna Tubuh	Bentuk Tubuh
1	I/1B	8	Putih kecoklatan	Lurus
2	I/2B	8	Putih kecoklatan	Lurus
3	I/3B	7	Putih kecoklatan	Lurus
4	I/4B	7,5	Putih kecoklatan	Lurus
5	I/5B	6,5	Putih kecoklatan	Lurus
6	I/1BB	10,5	Putih kecoklatan	Lurus
7	I/2BB	11	Putih kecoklatan	Lurus
8	I/3BB	11	Putih kecoklatan	Lurus
9	I/4BB	10,5	Putih kecoklatan	Lurus
10	I/5BB	9	Putih kecoklatan	Lurus
11	I/1R	11,5	Putih kecoklatan	Lurus
12	I/2R	12	Putih kecoklatan	Lurus
13	I/3R	11	Putih kecoklatan	Lurus
14	I/4R	11,5	Putih kecoklatan	Lurus
15	I/5R	12	Putih kecoklatan	Lurus

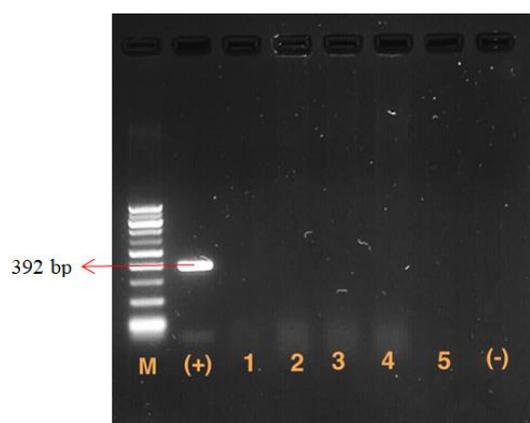
Keterangan : I = IHHNV, 1-5 = Nomor sampel, B = Kecamatan Bengkalis, BB = Kecamatan Bukit Batu, R = Kecamatan Rupert



Gambar 1. Hasil Deteksi Produk PCR Sampel Kecamatan Bengkalis



Gambar 2. Hasil Deteksi Produk PCR Sampel Kecamatan Bukit Batu



Gambar 3. Hasil Deteksi Produk PCR Sampel Kecamatan Rupat

Keterangan : M = DNA marker 100bp, (+) = kontrol positif IHHNV, 1-5 = sampel udang vaname, (-) = kontrol negatif IHHNV

Morfologi dari masing-masing udang vaname yang diamati berdasarkan gejala IHHNV yaitu terdapat perubahan warna kulit atau karapas udang, terdapat bercak-bercak putih terutama antara segmen eksoskeleton dan karapas, udang yang sekarat umumnya berwarna merah kecoklatan atau pink dan tubuh berbentuk bengkok (Rahmaningsih, 2018).

Hasil pengamatan morfologi berdasarkan warna dan bentuk tubuh udang vaname pada lokasi penelitian tidak menunjukkan gejala IHHNV. Semua sampel udang vaname berwarna putih, tidak terdapat bercak putih antara segmen eksoskeleton dan karapas, dan tubuh berbentuk lurus (Tabel 3).

Hasil Deteksi IHHNV dengan PCR

IHHNV yang diperoleh tidak menunjukkan pada ukuran amplicon 392 bp (Huerlimann *et al.*, 2022). Ukuran amplicon 392bp merupakan ukuran positif IHHNV sesuai dengan protokol *Office International des Epizooties* (OIE). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya udang vaname yang terdeteksi positif IHHNV pada semua sampel (Gambar 1-3).

Prevalensi Serangan IHHNV

Prevalensi adalah persentase udang vaname di Kabupaten Bengkalis yang terserang virus IHHNV. Terdapat 15 sampel udang vaname dari tiga kecamatan di Kabupaten Bengkalis, setelah dilakukan pengujian IHHNV menggunakan metode PCR dengan menggunakan primer spesifik menunjukkan bahwa sampel negatif dari virus. Jumlah serangan IHHNV dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Deteksi IHHNV

Lokasi	Kode Sampel	Hasil Uji
Kecamatan Bengkalis	I/1B	Negatif
	I/2B	Negatif
	I/3B	Negatif
	I/4B	Negatif
	I/5B	Negatif
Kecamatan Bukit Batu	I/1BB	Negatif
	I/2BB	Negatif
	I/3BB	Negatif
	I/4BB	Negatif
	I/5BB	Negatif
Kecamatan Rupat	I/1R	Negatif
	I/2R	Negatif
	I/3R	Negatif
	I/4R	Negatif
	I/5R	Negatif

Pada penelitian Aulia *et al.* (2019), dilakukan pengujian IHHNV di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya sampel yang digunakan yaitu 15 post larva udang vaname yang diperoleh dari beberapa tambak di Lamongan dan Tuban hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa prevalensi IHHNV yang didapatkan 0%.

Infeksi penyakit udang dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu keberadaan pathogen, kondisi udang dan lingkungan. Salah satu upaya untuk menghindari serangan penyakit pada budidaya udang vaname yaitu dengan menerapkan *biosecurity*. Pemasangan peralatan *biosecurity* merupakan faktor penting dalam keberhasilan budidaya udang dan mencegah masuknya patogen penyebab penyakit dan virus.

Tambak udang vaname yang terdapat di tiga lokasi di Kabupaten Bengkalis sudah menerapkan *biosecurity*. Salah satu langkah

yang dilakukan yaitu, dengan penggunaan benur yang bebas penyakit atau *specific pathogen free* yaitu benur yang bebas dari beberapa jenis penyakit tertentu seperti IHNV, WSSV, IMNV, dan TSV. Kemudian *water filtration*, bertujuan mencegah masuknya carrier dan predator secara langsung ke tambak udang, penyaringan air menggunakan saringan atau strimin ukuran 300-1.000 mikron. Penularan penyakit juga dapat terjadi melalui perantara peralatan tambak yang digunakan seperti sampan, jala, *water quality checker*, dan lain-lainnya. Alat-alat tersebut perlu disterilkan (*equipment sterilization*) untuk mencegah penularan penyakit (Supono, 2019).

Patogenisitas IHNV pada inang berhubungan erat dengan umur/ ukuran inang. Udang muda lebih rentan terhadap infeksi IHNV (Yu *et al.*, 2021) Udang lebih muda lebih sensitif terhadap IHNV, sistem pertahanan kekebalannya terhadap IHNV belum matang. Jika membandingkan reseptor IHNV pada membran sel udang pada tahap perkembangan yang berbeda, menganalisis perubahan aktivitas enzim terkait sistem kekebalan dan protein pengikat IHNV setelah terinfeksi IHNV, kita akan memiliki informasi yang lebih berharga untuk menjelaskan perbedaan patogenisitas IHNV

untuk udang pada tahap perkembangan yang berbeda. Ini dapat memberikan perspektif baru untuk pengendalian dan pencegahan IHNV yang efektif dan memberikan referensi untuk studi tentang berbagai tahap kerentanan virus udang terhadap infeksi inang.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan, prevalensi *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus* (IHNV) pada udang vaname adalah 0%. Udang vaname dari tiga lokasi di Kabupaten Bengkalis tidak menunjukkan adanya gejala klinis dari IHNV pada pemeriksaan morfologi. Semua sampel udang vaname berwarna putih kecoklatan, tidak terdapat bercak putih pada karapas dan tubuh berbentuk lurus.

Deteksi keberadaan *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus* (IHNV) penyebab sindrom deformitas kekerdilan menggunakan teknik *Polymerase chain reaction* (PCR) sangat bermanfaat dan akurat untuk mendeteksi keberadaan virus tersebut. Oleh karena itu, pengaplikasian metode ini sangat baik apabila dilakukan di semua usaha budidaya udang vaname di Kabupaten Bengkalis.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariadi, H., A. Wafi, M. Musa, & Supriatna. (2021). Keterkaitan Hubungan Parameter Kualitas Air Pada Budidaya Intensif Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12(1): 18-28.
- Aulia, A.M.S., D.S. Budi, A.H. Fasya, H. Kenconoajati, & M.H. Azhar. (2019). Deteksi Virus pada Udang Vaname (*Litopenaeus vanamei*) di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya I Virus Detection of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vanamei*) at Fish Quarantine Center, Quality Control, and Security of Fishery. *Journal of Aquaculture*, 4(2): 83-90.
- Cameron, A. (2002). *Survey Toolbox for Aquatic Animal Diseases: A Practical Manual And Software Package*. ACIAR Monograph No.94. 375p.
- Evans, N.T & G.A. Lamberti. (2018). Freshwater fisheries assessment using environmental DNA: A primer on the method, its potential, and shortcomings as a conservation tool. *Fisheries Research*, 16: 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.09.013>
- Hernández-Ruíz, H., H.H. Montaldo, J. Bustos-Martínez, G.R. Campos-Montes, & H. Castillo-Juárez. (2020). Heritability and genetic correlations for *infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus* load, body weight at harvest, and survival rate in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vanamei*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(1): 312-323.
- Huerlimann, R., et al. (2022). Genome assembly of the Australian black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) reveals a novel fragmented IHNV EVE sequence. *G3*, 12(4), jkac034.
- Mahardika, A., N. Umar, N. Wardhani, & I. Suprianto. (2020). Sistem Pakar untuk Mendiagnosa Penyakit Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Menggunakan Metode Dempster-

- Shafer. *Jurnal IT*, 11(3): 133-141.
- Nurhidayati, M., B. Al Kindhi, & F.I. Adhim. (2021). Implementasi Logika Fuzzy untuk Kontrol pH dan Salinitas Air Tambak. *Jurnal Teknik ITS*, 10(2): F244-F249.
- Oktavian, M.S., A. Budiyanto, D. Farahiyah, & H.H. Triharminto. (2019). Rancang Bangun Sistem Pengendalian dan Monitoring di Tambak Udang. *In Prosiding Seminar Nasional Sains Teknologi Dan Inovasi Indonesia (SENASTINDO)*, 1(1) :183-194.
- Ponce-Palafox, J.T., et al. (2019). Response surface analysis of temperature-salinity interaction effects on water quality, growth, and survival of shrimp *Penaeus vannamei* post larvae raised in biofloc intensive nursery production. *Aquaculture* 503: 312-321.
- Rahmaningsih, S. (2018). *Hama & Penyakit Ikan*. Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Kebumen. Jawa Tengah : Deepublish.
- Salsabiela, M. (2020). Pengaruh Tingkat Salinitas Berbeda terhadap Pertumbuhan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang Diablasti. *Jurnal Indonesia Sosial Teknologi*, 1(5): 405-413
- Supono. (2019). *Budidaya Udang Vaname Salinitas Rendah, Solusi untuk Budidaya di Lahan Kritis*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Yu, J. Y., Yang, N., Hou, Z. H., Wang, J. J., Li, T., Chang, L. R., & Yan, D. C. (2021). Research progress on hosts and carriers, prevalence, virulence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV). *Journal of Invertebrate Pathology*, 183, 107556.