

DETEKSI INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS (ILT) SECARA PATOLOGIK

(Detection of Infectious Laryngotracheitis (ILT) by Pathological Examination)

HELMY HAMID, M. SAEPULLOH, RISA INDRIANI dan DARMINTO

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16141

ABSTRACT

Since 1982 there was no infectious laryngo-tracheitis (ILT) case reported in Indonesia, although serological positive reactors were found in commercial layers and native chickens lately. The objective of this study was to investigate ILT field cases in West Java areas. In this study, 3 different fixation solutions, *i.e.* Carnoy's, Bouin's and BNF 10% solutions were compared. The samples were collected from a number of farms suspected of ILT based on the clinical evidences. In the laboratory the samples were processed for gross and histopathological examinations. Ten out of 35 samples collected in Bogor were ILT positive, while, 11 and 5 samples out of 49 and 9 samples collected in Tangerang and Bekasi were positive respectively. The Bogor's samples shown changes in the trachea posing acute cases and scorred between 3 and 4. Whereas, both samples obtained from Tangerang and Bekasi scorred between 1 and 2. Among the three fixation solutions, Carnoy's showed the best solution for detecting intranuclear inclusion bodies. This study concluded that virus isolation of ILT and histopathological examination correlated significantly.

Key words: Infectious laryngo-tracheitis (ILT), pathology, fixation, trachea

ABSTRAK

Sejak kejadian *infectious laryngo-tracheitis* (ILT) di Indonesia dilaporkan pada tahun 1982, sampai sekarang tidak ada laporan kasus tertulis mengenai penyakit tersebut walaupun secara serologik ditemukan banyak reaktor positif yang sangat tinggi baik pada ayam ras maupun ayam buras. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui penyebaran penyakit ILT di lapangan serta membandingkan penggunaan 3 macam larutan fiksasi (Carnoy's, Bouin's dan BNF 10%) untuk pemeriksaan histopatologik. Sampel ayam dikoleksi dari beberapa peternakan yang diduga terinfeksi ILT berdasarkan gejala klinis dan diperkuat dengan hasil pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik di laboratorium. Hasil pemeriksaan 35 sampel ayam yang dikoleksi di Kabupaten Bogor ditemukan 10 sampel positif ILT dengan perubahan yang patognomonik berupa ditemukannya *intranuclear inclusion bodies* pada tenggorok dengan angka nilai 3 dan 4. Sementara itu, sampel yang dikoleksi dari Tangerang dan Bekasi ditemukan 9 dan 5 sampel positif ILT dari masing-masing 49 dan 11 sampel yang diperiksa dengan nilai 1 dan 2. Hasil pengujian 3 macam larutan fiksasi menunjukkan bahwa Carnoy's memberikan hasil yang paling baik untuk mendeteksi *intranuclear inclusion bodies*. Hasil isolasi virus ILT dari sampel lapangan dengan hasil pemeriksaan histopatologik menunjukkan adanya korelasi yang nyata.

Kata kunci: *Infectious laryngo-tracheitis* (ILT), patologi, fiksasi, tenggorok

PENDAHULUAN

Kesehatan ternak merupakan bagian tak terpisahkan dari upaya peningkatan produksi ternak, karena produktivitas hanya dapat dicapai secara optimal apabila ternak dalam keadaan sehat. Oleh karena itu, kontrol terhadap aspek kesehatan merupakan prasyarat tercapainya target produksi yang optimal. Namun, untuk mencapai tujuan tersebut tidaklah mudah. Hal ini disebabkan masih terdapat beberapa kendala berupa penyakit unggas, di antaranya penyakit viral yang sangat menular, yaitu penyakit *Infectious laryngotracheitis* (ILT). Penyakit ILT disebabkan oleh virus golongan herpes yang memiliki selaput luar (*envelop*) dan partikel virus yang lengkap berukuran sekitar 195-250 nm. Selain itu, virus ILT hanya mempunyai satu serotipe, tetapi mempunyai sifat keganasan yang berbeda, yaitu yang virulen dan kurang virulen. Perbedaan tersebut juga terlihat dalam hal netralisasi oleh serum kebal dan patogenisitasnya bila diinfeksi pada ayam sehat (HUNGERFORD, 1969; TRYPATHY dan HANSON, 1980).

Penyakit *Infectious Laryngotracheitis* (ILT) adalah penyakit saluran pernafasan yang sangat menular pada unggas terutama ayam (HANSON dan BAGUST, 1991). Penyakit ini bersifat akut dan menular dengan cepat dengan gejala klinis berupa gangguan pernafasan berat dan kadang-kadang disertai muntah darah (GUY *et al.*, 1990; BAGUST dan GUY, 1997). Sedangkan perubahan patologik yang spesifik terutama pada trachea berupa perubahan lapisan submukosa yang diinfiltrasi oleh sel radang pada bentuk akut, terdapat kemerahan sel-sel epitel yang mengalami ulserasi dan sebagian sel-sel ini akan membentuk syncytia dan pada daerah ini akan mudah ditemukan *eosinophilic inclusion bodies* yang hanya dapat dideteksi pada hari ke-5 sampai ke-7 setelah infeksi (GARSIDE, 1965; GUY *et al.*, 1990). ILT juga dapat menyebabkan penurunan berat badan dan penurunan produksi telur, sehingga ILT sangat merugikan baik pada ayam petelur, pedaging maupun pembibitan (BAGUST, 1986; HUGHEST *et al.*, 1987).

Kasus ILT di Indonesia pertama kali dilaporkan oleh PARTADIREJA *et al.* (1982) yang terjadi pada ayam ras petelur berumur 20 minggu pada sebuah peternakan ayam di Wilayah Bogor dengan angka kematian mencapai 3%. Sementara itu, kasus ILT pada ayam buras di Kabupaten Bekasi, Jawa Barat pernah juga dilaporkan oleh GILCHRIST (1992). Selanjutnya, berdasarkan hasil studi serologik di Jawa Barat telah pula diperoleh sebaran reaktor antibodi terhadap virus ILT pada ayam yang belum divaksinasi, yaitu pada ayam ras mencapai 10% hingga 90% dan pada ayam buras mencapai 73% hingga 92,5% (MANGUNWIRYO *et al.*, 1995; WIYONO *et al.*, 1996).

Temuan tersebut menunjukkan bahwa ILT sudah tersebar baik pada ayam ras maupun ayam buras di Jawa Barat. Tujuan kegiatan penelitian ini ialah untuk mengetahui penyebaran penyakit dengan menggunakan teknik diagnosis patologik dengan membandingkan penggunaan tiga macam larutan fiksasi, yaitu BNF 10%, Carnoy's dan Bouins diharapkan hasil kegiatan tersebut dapat mendukung hasil isolasi dan identifikasi virus ILT.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan lapangan

Dalam kegiatan ini dilakukan kunjungan ke berbagai peternakan di Kabupaten Bogor, Bekasi, dan Tangerang Jawa Barat untuk mengumpulkan spesimen berupa ayam sakit yang diduga terinfeksi oleh virus ILT. Terhadap sebagian dari sampel yang diambil dilakukan bedah bangkai dan

mencatat semua perubahan pascamati dan perubahan gejala klinis. Pemeriksaan sebagian sampel dilakukan di laboratorium.

Kegiatan di laboratorium

Bedah bangkai dilakukan pada ayam yang diduga terserang virus ILT. Kemudian potongan-potongan organ, terutama organ bagian saluran pernapasan seperti tenggorok dan paru-paru serta organ lainnya diambil dan difiksasi dengan 3 macam larutan fiksasi, yaitu 10% BNF selama 48 jam, larutan Bouin's selama 24 jam dan selama 18 jam dalam larutan Cornoy's. Dehidrasi dilakukan dengan menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat dan alkohol absolut. Selanjutnya dilakukan proses clearing dengan larutan xylol. Impregnasi dan embedding dilakukan dengan menggunakan mesin Embedding Tissue-Tek II. Jaringan dipotong setebal 5 μ m dan diwarnai secara manual dengan larutan Mayer's haematoxyline-eosin lalu potongan organ tersebut diamati di bawah mikroskop cahaya untuk melihat perubahan histopatologik secara subyektif.

Perubahan histopatologik (mikroskopik) diamati pada tenggorok berdasarkan sistem penilaian (Scoring system) 1 sampai 4 dari tingkat perubahan yang minimal sampai ke tingkat perubahan yang sangat parah (GUY *et al.*, 1990). Kriteria yang dipakai dalam sistem ini adalah sebagai berikut:

- 1 = Mukosa tenggorok sedikit menebal yang disebabkan oleh sedikit infiltrasi sel-sel radang. Kelenjar mukosa dalam keadaan normal, kecuali terdapat fokal sinsitia dan ditemukan beberapa *intranuclear inclusion bodies*.
- 2 = Mukosa tenggorok menebal karena infiltrasi sel-sel radang dalam jumlah sedang. Beberapa sinsitia sel epitel dengan *intranuclear inclusion bodies* ditemukan. Sebagian kecil dari sel-sel epitel mengalami ulserasi dan pada daerah lain terlihat sebagian kecil lapisan epitel ini terlepas dari lapisan lamina propria. Perdarahan hebat ditemukan pada daerah mukosa dan di luar daerah mukosa.
- 3 = Mukosa tenggorok sangat menebal yang disebabkan oleh eedema dan cairan eksudat yang berbentuk serous sampai berbentuk fibrin bercampur darah. Sel-sel epitel mukosa sudah tidak terlihat dan sebagian mukosa dilapisi oleh sel-sel basal yang berbentuk pipih. Sinsitia sel-sel epitel dengan *intranuclear inclusion bodies* masih banyak ditemukan.
- 4 = Hampir sama dengan katagori 3, kecuali tidak ditemukan lagi sisa epitel, sedangkan sinsitia sel dan *intranuclearinclusion bodies* sudah sangat jarang ditemukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan klinis dan patologi anatomi

Selama tiga kali kunjungan lapangan diperoleh sampel organ yang berasal dari ayam yang diduga terserang ILT sebanyak 95 sampel berupa tenggorok dan organ lainnya untuk keperluan diagnosis. Gejala klinis yang diamati dapat dikelompokkan menjadi dua bentuk, yaitu gejala klinis bentuk berat (akut) dan gejala yang ringan. Untuk gejala klinis bentuk berat ini berupa kesulitan bernapas (tercekik) serta ditemukan leleran yang dicampur darah disekitar mulut dan hidung. Pada kasus ini angka kematian cukup tinggi dan jumlah kesakitan berkisar 10–40%. Perubahan patologik anatomi berupa adanya sumbatan leleran bercampur darah pada lumen tenggorok, serta terlihat tenggorok berwarna kemerahan. Untuk bentuk ringan perubahan yang terlihat berupa sedikit

kemerahan pada tenggorok kadang-kadang ditemukan leleran yang berbentuk cair. Pembengkakan pada daerah sekitar orbital juga sering terlihat disertai dengan leleran pada hidung. Kadang-kadang juga ditemukan peradangan pada konjungtiva (konjungtivitis). Angka kesakitan pada kelompok ini tidak terlalu tinggi berkisar antara 2–5%, tidak terlihat perubahan yang mencolok pada organ lain seperti paru-paru dan daerah sinus.

Hasil pengamatan histopatologi

Perubahan histopatologik (mikroskopik) disajikan pula Tabel 1, 2, 3, dan 4 berdasarkan penilaian sistem leleran yang sudah dijelaskan pada metodologi.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan histopatologi pada organ tenggorok yang menunjukkan perubahan sesuai dengan ILT pada sampel lapangan dari Kabupaten Tangerang, Bekasi dan Bogor

Lokasi/Kode Peternakan	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Tangerang			
TNG-1	5	0	5
TNG-2	5	0	5
TNG-3	5	0	5
TNG-4	7	0	7
TNG-5	5	0	5
TNG-6	5	0	5
TNG-7	5	0	5
TNG-8	5	3	2
TNG-9	7	6	1
Bekasi			
BKS-1	4	1	3
BKS-2	3	0	3
BKS-3	4	4	0
Bogor			
BGR-1	5	2	3
BGR-2	6	0	6
BGR-3	2	2	0
BGR-4	11	0	11
BGR-5	5	0	5
BGR-6	6	6	0
Total	95	24	71
Persentase (%)	100	25,3	74,7

Tabel 2. Perubahan histopatologi pada organ tenggorok berdasarkan sistem penilaian pada sampel lapang dan positif ILT dari Kabupaten Tangerang, Bekasi dan Bogor

Jumlah sampel positif ILT				
Lokasi	Penilaian 1	Penilaian 2	Penilaian 3	Penilaian 4
TNG-8	0	2	1	0
TNG-9	0	6	0	0
BKS-1	1	0	0	0
BKS-3	0	2	2	0
BGR-1	2	0	0	0
BGR-3	0	1	1	0
BGR-6	0	0	3	3
Total	3	11	7	3

Keterangan: 1 = Mukosa sedikit tebal, sinsitia fokal epitel dan beberapa *inclusion bodies* (IB)
 2 = Mukosa tebal beberapa sinsitia epitel dengan IB, epitel sedikit ulserasi, perdarahan hebat pada mukosa
 3 = Mukosa sangat tebal, epitel tidak terlihat, ditemukan sel-sel basal pada mukosa, sinsitia epitel dan IB masih ada
 4 = Hampir sama dengan 3, kecuali sinsitia tidak ada, IB kadang-kadang ditemukan

Tabel 3. Perbandingan penggunaan tiga macam larutan fiksasi pada organ tenggorok untuk mendeteksi *inclusion bodies*

Penilaian	Jumlah sampel (potongan tenggorok)	Larutan fiksasi		
		Carnoy's	BNF 10%	Buoin's
1	3	3	3	0
2	11	10	6	1
3	7	7	7	7
4	3	3	3	3
Total	24	23	19	11

Ditemukan sebanyak 9 sampel yang positif ILT yang berasal dari 2 peternakan di Kabupaten Tangerang, yaitu pada peternakan TNG-8 dan jenis petelur Hysex Brown umur 17 minggu dengan total populasi 8.000 ekor. Jumlah persentase yang sakit dan yang mati masing-masing 2 dan 1%. Pada peternakan ini gejala klinis yang timbul 1 minggu setelah ayam divaksinasi dengan vaksin ILT berupa pembengkakan di sekitar mata dan kesulitan bernapas sesuai dengan pengamatan yang dilakukan BAGUST *et al.* (2000) dan LINARES *et al.* (1994). Kasus kedua ditemukan pada peternakan TNG-9 jenis ayam petelur Lohman umur 13 minggu yang belum divaksinasi. Total kematian sebanyak 2% pada populasi 14.000. Gejala yang timbul berupa pembengkakan di sekitar mata, konyungtiva berwarna merah.

Dalam pemeriksaan bedah bangkai terlihat tenggorok mengalami perdarahan dan pada lumen ditemukan leleran yang berbentuk cair. Kasus yang sama juga ditemukan di Kabupaten Bekasi di dua peternakan, yaitu BKS-1 pada ayam petelur jenis Isa Brown umur 8 minggu dengan total populasi 5000 ekor. Jumlah persentase yang sakit dan mati masing-masing 20 dan 30%. Pada BKS-3 juga terjadi hal yang sama pada jenis ayam petelur Isa Brown yang mempunyai populasi 20.000, dengan jumlah kesakitan 30% dan kematian 5% pada ayam berumur 30 minggu. Gejala klinis yang dapat diamati sangat spesifik berupa ngorok dan ayam terlihat tercekik dengan leleran darah pada daerah di sekitar mulut dan hidung. Pada pemeriksaan bedah bangkai ditemukan sumbatan yang terdiri atas leleran yang bercampur darah pada lumen tenggorok. Tidak ditemukan kelainan yang spesifik pada organ lain.

Wabah ILT juga ditemukan di Kabupaten Bogor pada peternakan BGR-6. Peternakan ini mempunyai dua lokasi yang berbeda di kecamatan yang sama yang dimiliki oleh satu orang. Pertama kali dilaporkan adanya kasus ILT pada peternakan 1 yang mempunyai total populasi 10.000 pada ayam-ayam yang sudah berproduksi. Jumlah ayam yang sakit sebanyak 4.000 ekor diikuti dengan kematian sebanyak 160 ekor. Empat bulan kemudian terjadi lagi kasus yang sama di peternakan ke-2 pada suatu lokasi peternakan yang memiliki pemeliharaan ayam berproduksi dan ayam pulet. Kejadian ILT pertama kali terdeteksi pada ayam yang sudah berproduksi, 3 bulan setelah vaksinasi ILT ke-2. Jumlah ayam yang terserang sebanyak 3.200 ekor dan yang mati 125 ekor dari total populasi 10.000 ekor. Selanjutnya, pada lokasi yang sama terjadi wabah ILT pada ayam pulet umur 42 hari. Total populasi 10.000 dengan 1.200 ekor ayam sakit dan 250 ekor ayam mati. Gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan perubahan histopatologi serta isolasi virus penyebab penyakit memastikan bahwa wabah ini disebabkan oleh virus ILT. Kejadian yang mirip dengan kasus ini juga dilaporkan oleh BAGUST and JOHNSON (1995) bahwa sumber virus ILT bisa berasal dari alam dan atau penggunaan vaksin hidup ILT pada suatu peternakan.

Hasil pemeriksaan histopatologi dan isolasi virus (Tabel 4) menunjukkan banyak terjadi kesesuaian pada sampel yang dikumpulkan dari lapangan kecuali pada peternakan TNG-8 dan TNG-9 yang dalam hal ini isolasi virus tidak semuanya dilakukan sehingga dari sejumlah sampel yang diamati terdapat beberapa sampel yang menunjukkan hasil positif berdasarkan pengamatan patologi sedangkan isolasi virus tidak dilakukan. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan teknik patologi cukup sensitif dan efektif dalam mendeteksi kasus ILT.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan histopatologi dan isolasi virus ILT pada organ tenggorok dari Kabupaten Tangerang, Bekasi dan Bogor

Lokasi	Jumlah Sampel	Diagnosis ILT		Positif ILT (Histopat)
		Positif	Negatif	
Tangerang				
TNG - 1	5	0	2	0
TNG - 2	5	0	3	0
TNG - 3	5	0	3	0
TNG - 4	7	0	5	0
TNG - 5	5	0	3	0
TNG - 6	5	0	3	0
TNG - 7	5	0	3	0
TNG - 8	5	0	3	3
TNG - 9	7	0	5	6
Bekasi				
BKS - 1	4	1	0	1
BKS - 2	3	0	0	0
BKS - 3	4	4	0	4
Bogor				
BGR - 1	5	1	0	2
BGR - 2	6	1	0	0
BGR - 3	2	1	0	2
BGR - 4	11	-	11	0
BGR - 5	5	-	5	0
BGR - 6	6	6	0	6

Perbandingan penggunaan 3 macam larutan fiksasi menunjukkan bahwa penggunaan larutan Carnoy's memberikan hasil yang paling baik untuk dapat mendeteksi *intranuclear inclusion bodies* pada tenggorok (Tabel 3). Hal ini terlihat pada kerusakan tenggorok yang masih ringan, yakni *inclusion bodies* dapat dengan mudah diamati.

KESIMPULAN

Telah ditemukan kasus ILT di tiga Kabupaten di Jawa Barat, yaitu Bogor, Tangerang dan Bekasi berdasarkan diagnosis patologik, dengan gejala klinis, patologik anatomi, dan histopatologik yang bervariasi.

Larutan fiksasi Carnoy's mempunyai kemampuan mendeteksi *intranuclear inclusion bodies* yang terbaik, kemudian diikuti oleh larutan fiksasi BNF 10%, terutama pada kerusakan yang masih dini.

Ditemukan korelasi antara hasil isolasi virus ILT dan teknik diagnosis secara patologik.

DAFTAR PUSTAKA

- BAGUST, T.J. 1986. Laryngotracheitis (Gallid-1) herpesvirus infection in chicken. 4. Latency established by wild and vaccine strains of ILT virus. *Avian Pathol.* 15: 581-595.
- BAGUST, T.J and J.S. GUY. 1997. Laryngotracheitis. *Dalam: Calnek, B.W., H.J. Barnes, Beard, C.W., L.R. McDougald, dan Y.M. Saif, (eds.). Diseases of Poultry.* 10th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- BAGUST, T.J. dan M.A. JOHNSON. 1995. Avian infectious laryngotracheitis: virus-host interactions in relation to prospects for eradication. *Avian Pathol* 24: 373-301.
- BAGUST, T.J., R.C. JONES, and J.S. GUY. 2000. Avian infectious laryngotracheitis. *Rev. Sci. Tech. off. Int. Epiz.* 19 (2): 483-492
- GARSDIE, J.S. 1965. The histopathological diagnosis of avian respiratory infections. *Vet. Rec.* 77(13): 354-366
- GILCHRIST, P. 1992. Report of suspected oscular form of infectious laryngotracheitis (ILT) in Bekasi. Report for Balitvet Bogor
- GUY, J.S., H.J. BARNES, and L.M. MORGAN. 1990. Virulence of infectious laryngotracheitis viruses: Comparison of modified-live vaccine viruses and North Carolina field isolates. *Avian Dis.* 34: 106-113.
- HANSON, L.E., and T.J., BAGUST. 1991. Laryngotracheitis. *In: Calnek, B.W. et al. (Eds). Diseases of Poultry.* 9th editions. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. p. 485-495.
- HUGHES, C.S., R.C. JONES, R.M. GASKELL, F.T.W. JORDAN and J.M. BRADBURY. 1987. Demonstration in live chickens of the carrier state in infectious laryngotracheitis virus from latency infected carrier birds. *Res. Vet. Sci.* 42: 407-410
- HUNGERFORD, T.G. 1969. Infectious laryngotracheitis. *In: Disease of Poultry including Case Birds and Pigeons* (Hunerford, T.G., ed.) Angus & Roberstson, Melbourne, Australia.
- LINARESS, J.A., A.A. BICFORD, G.L. COOPER, B.R. CHARLTON, and P.R. WOOLCOCK. 1994. An outbreak of infectious laryngotracheitis in California broilers. Case Report. *Avian Diseases* 38: 188-192.

- MANGUNWIRYO, H., DARMINTO dan ZULKIFLI. 1995. Survei serologik terhadap infectious laryngotracheitis (ILT) pada ayam buras dan ras di Jawa Barat. Dalam: Prosiding Seminar Nasional Teknologi Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Cisarua, Bogor 22-24 Maret 1994. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. pp. 140-147.
- PARTADIREJA, M., R.D. SOEDJOEDONO, dan S. HARDJOSWORO. 1982. Kasus infectious laryngotracheitis di daerah Bogor, (Isolasi dan identifikasi virus dengan cara pewarnaan). Proceedings Seminar Penelitian Peternakan. Puslitbangnak. pp. 522-525.
- TRIPATHY, D.N. and L.E. HANSON. 1980. Laryngotracheitis. *In*: Isolation and identification of Avian Pathogens. pp. 88-90.
- WIYONO, A., S. MUHARAM, A. SAROSA, dan DARMINTO. 1996. Sebaran titer antibodi infectious laryngotracheitis (ILT) pada ayam ras dan buras di Kabupaten Cianjur, Tangerang dan Karawang. **Dalam**: Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner, Bogor 12-13 Maret 1996. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. Pp. 88-95.