

Toksoplasmosis Ibu Hamil Di Indonesia

(Studi Tindak Lanjut Survai Kesehatan Rumah Tangga 1995)

Salma Ma'roef, Soeharsono Soemantri

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta

ABSTRAK

Untuk meningkatkan derajat kesehatan di tahun 2010 perlu diketahui indikator yang berpengaruh; salah satu di antaranya ialah pencegahan abortus dan meningkatkan sumber daya manusia (SDM) melalui pencegahan kecacatan akibat toksoplasmosis pada ibu hamil.

Dari analisis tindak lanjut ibu hamil SKRT 1995 terhadap toksoplasmosis didapatkan 697 tabung serum dari 805 tabung serum ibu hamil yang dapat dimerge dengan *dBase*.

Dari enam pulau di Indonesia didapatkan 59,8% serum ibu hamil positif kumulatif IgG toksoplasmosis, tertinggi di pulau Sulawesi (76,5%) dan terendah di Nusa Tenggara (43,4%), sedangkan lainnya sekitar 57,5%-65,0% (Jawa-Bali, Sumatera, Irian Jaya dan Kalimantan). Irian Jaya menunjukkan IgM toksoplasmosis tertinggi (20,0%), Nusa Tenggara rendah yaitu 1,9%, dan di Sulawesi tidak ditemukan IgM, sedangkan daerah Kalimantan dan Sulawesi hampir sama (2,7%-3,2%).

Propinsi dengan IgG toksoplasmosis paling tinggi adalah Lampung (88,66%) sedangkan IgM paling tinggi di Irian Jaya dan Riau (20,0%) dari 19 propinsi di Indonesia.

Kebanyakan ibu hamil mempunyai kumulatif IgG unit 0,200-0,299 (22,0%), kumulatif unit > 0,900 (17,1%), dan kumulatif unit 0,100-0,199 (16,5%).

Kelompok umur yang terutama adalah 20-34 tahun (72,3%) dan kurang 19 tahun (16,4%).

Berdasarkan trimester kehamilan, terutama pada trimester ke dua (41,5%) dan trimester ke tiga (35,2%).

Perlu dilakukan penyuluhan pada remaja usia subur oleh petugas kesehatan/bidan dan kalau perlu dilakukan penelitian dengan metode lain yaitu *case control*.

PENDAHULUAN

Data yang digunakan dalam laporan ini secara intern diambil dari laporan studi *follow up* ibu hamil⁽¹⁾ SKRT 1995 dengan alasan apabila studi tindak lanjut SKRT terhadap toksoplasmosis ibu hamil direncanakan dari semula maka laporan ini harus tercakup dalam Studi Tindak Lanjut Ibu Hamil SKRT tersebut. Masalah Toksoplasmosis Ibu Hamil ini perlu diperhitungkan karena salah satu risikonya adalah toksoplasmosis kongenital⁽²⁾ :

1. Risiko pada kehamilan trimester I: ringan 40% dan berat 60%.
2. Risiko pada kehamilan trimester II: ringan 70% dan berat 30%.
3. Risiko pada kehamilan trimester III: ringan 100% dan berat 0%.

Risiko infeksi toksoplasmosis kongenital pada kehamilan trimester I telah terbukti tinggi; penelitian Hartono pada tahun 1993/1994⁽³⁾ yang mengambil sampel plasenta keguguran

spontan dalam kehamilan trimester I dari RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta dan RS Dr. Hasan Sadikin Bandung memberikan hasil isolasi positif 80,2% mengandung parasit *Toxoplasma gondii*, sedangkan hasil test ELISA dari pasien yang sama memberikan hasil 51,48% positif dengan titer antara 1 : 100 sampai dengan lebih dari 1 : 3200; selisih dari hasil dua macam cara diagnosis yang cukup bermakna tersebut disebabkan oleh gangguan hormonal pada kehamilan muda⁽⁴⁾.

Toksoplasmosis pada ibu hamil dapat menyebabkan abortus dan lahir mati, bayi dengan kelainan kongenital seperti hidrosefalus, ensefalitis, khoriorietinitis, miokarditis, miositis, limfadenopati dan gangguan saraf⁽⁵⁾.

Karena itu toksoplasmosis pada manusia perlu mendapat prioritas utama di samping penyakit zoonosis lainnya, lebih-lebih dengan meningkatnya import daging dan mengingat kegemaran masyarakat Indonesia akan sate kambing setengah matang serta sayuran mentah.

TUJUAN PENELITIAN

Mengetahui gambaran distribusi Toksoplasmosis pada Ibu Hamil (Bumil) di Indonesia dan masing-masing daerah (pulau). Tujuan Khusus

1. Untuk melihat distribusi serum, IgG dan IgM ibu hamil berdasarkan daerah.
2. Untuk melihat distribusi serum, IgG dan IgiM ibu hamil berdasarkan propinsi
3. Untuk melihat distribusi persentase IgG/unit berdasarkan kelompok umur ibu hamil.
4. Untuk mengetahui distribusi persentase IgG/unit berdasarkan trimester kehamilan ibu hamil.

Data didapatkan dari serum pertama kunjungan responden yang berjumlah 1396 ibu hamil. Jumlah serum yang diambil dari responden sebanyak 5 -- 7 ml. digunakan untuk:

1. Pemeriksaan Hepatitis B (oleh Biofarma Bandung).
2. Pemeriksaan HIV/AIDS dengan metoda ELISA.
3. Pemeriksaan Syphilis (oleh laboratorium NAMRU II, Jakarta).

Bila positif, pemeriksaan diulang dengan *test Western Blot* untuk konfirmasi.

Pemeriksaan syphilis dilakukan dengan 2 metode yaitu : (1) Hemaglutinasi dan (2) *Reversed Passive Haemaglutination* (RPHA).

Serum disimpan di laboratorium Puslit Penyakit Menular dan laboratorium NAMRU II Jakarta sejak pertengahan tahun 1984 dalam *freezer Revco* (-70° C), dan berkali-kali dicairkan sehingga berisiko penurunan titer zat anti yang dikandung, ditambah dengan transportasi yang mungkin tidak disertai dengan *dry-ice*, hal ini akan mempengaruhi pemeriksaan titer IgM.

Keadaan ini juga terjadi saat serum dipindahkan dari laboratorium Parasitologi FKUI juga mengalami pencairan pada waktu seleksi sehingga akhirnya jumlah serum yang dapat diperiksa untuk toksoplasmosis dengan test ELISA terhadap IgG dan IgM tinggal 767 tabung dan sisanya dari 805 tabung yang dikirim ternyata 70 tabung kosong.

Prosedur pemeriksaan adalah sebagai berikut : Deteksi IgG dan IgM Toksoplasma dilakukan dengan test

ELISA menggunakan *kit toxonostika IgG* dan *toxonostika IgM* buatan Organon. Dari tiap sampel dipisah 10 µl yang dilarutkan dalam 1 ml *phosphate buffer saline* (PBS). Untuk deteksi IgG dimasukkan 100 µl larutan serum ke dalam sumur lempeng Micro ELISA, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Konjugat diikat pada kompleks Ag - Ab akan mengalami kerusakan sehingga terjadi perubahan warna. Reaksi dihentikan dengan larutan H₂SO₄. Intensitas perubahan warna diukur dengan *ELISA Reader* menggunakan filter 450 nm. Sebagai kontrol digunakan serum negatif, serum positif lemah dan serum positif kuat sebagai kalibrator. Titer zat 1:100 adalah positif. Pada toxonostika IgM prinsipnya adalah *Antibody Capture Sandwich*. Dasar sumur dilapisi dengan *anti-human IgM*. Bila ditambah serum penderita, semua antibodi IgM akan diikat. Bila ditambahkan antigen toksoplasma dan konjugat akan terbentuk kompleks anti IgG-IgM yang mengikat antigen dan konjugat. Penambahan substrat menyebabkan perubahan warna yang intensitasnya diukur dengan *ELISA Reader* setelah reaksinya dihentikan dengan larutan H₂SO₄.

HASIL

Untuk melengkapi laporan deteksi zat dari serum ibu hamil SKRT 1995 ini kiranya perlu dilaporkan juga data Ibu Hamil yang diambil secara intern dari laporan Studi Follow Up Ibu Hamil SKRT sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Serum*

Penyakit	Cara Pemeriksaan	Jumlah		%
		Diperiksa	Positif	
Malaria	Sediaan tebal	901	0	1,0
Syphilis	Hemaglutinasi RPHA	1000	13	1,3
HIV	ELISA Western Blot	1014	0	0
Hepatitis HBs Ag	ELISA	1024	118	11,5
HB e Ag	ELISA	118	24	20,3

(Kutipan Studi Follow Up Ibu Hamil. Seminar Hasil SKRT 1995)³

Dari jumlah serum yang diperiksa setelah dimerge dengan *dBase* maka ditemukan IgG antibodi *T. gondii* positif pada 419(59,8%) dari 697 ibu hamil dan IgM positif pada 34 ibu hamil (4,9%) (tabel 2):

Tabel 2. Penyebaran *Toxoplasma gondii* pada serum ibu hamil menurut pulau di Indonesia

No	Pulau	Serum	%	Jumlah			
				IgG	%	IgM	%
1	Sumatera	218	31,3	137	62,6	17	7,8
2	Jawa - Bali	261	37,4	150	57,5	7	2,7
3	Nusatenggara	53	7,6	23	43,4	1	1,9
4	Kalimantan	123	17,6	80	65,0	4	3,2
5	Sulawesi	17	2,4	13	76,5	-	-
6	Irian Jaya	25	3,6	16	64,0	5	20,0
Total		697	100,0	417	59,8	34	4,9

Persentase data serum dari Jawa-Bali yang paling banyak (37,4%) kemudian dari Sumatera (31,3%) dan Kalimantan (17,6%), Nusa Tenggara (7,6 %) Irian Jaya (3,6 %) dan Sulawesi hanya 2,4 %. Dari data di atas tampak bahwa IgG anti

toksoplasma pada ibu hamil tersebar merata di semua pulau; persentase antibodi IgM tertinggi ibu hamil adalah di Irian Jaya (20,0%).

Tabel 3. Presentase IgG *T gondii* positif pada serum ibu hamil menurut Propinsi di Indonesia (Analisis Lanjut SKRT 1995)

No	Propinsi	Jumlah				
		Diperiksa	IgG	%	IgM	%
1	Aceh	44	26	59,09	1	2,27
2	Sumatera Utara	29	20	68,96	1	3,45
3	Sumatera Barat	50	27	54,00	6	12,00
4	Riau	20	11	55,00	4	20,00
5	Jambi	41	21	51,21	3	7,32
6	Lampung	34	30	88,23	3	8,82
7	DKI Jaya	26	20	76,92	-	-
8	Jawa Barat	67	46	68,66	-	-
9	Jawa Tengah	58	34	58,62	4	6,90
10	Jawa Timur	54	20	48,78	-	-
11	Bali	56	30	53,57	3	3,56
12	Nusa Tenggara Barat	38	11	28,95	-	-
13	Nusa Tenggara Timur	15	12	80,00	1	6,25
14	Kalimantan Barat	34	20	55,88	-	-
15	Kalimantan Tengah	19	13	68,42	1	5,26
16	Kalimantan Selatan	38	21	55,26	2	5,26
17	Kalimantan Timur	32	26	81,25	1	3,12
18	Sulawesi Tengah	17	13	76,47	-	-
19	Irian Jaya	25	16	68,00	5	20,00
Total		697	419	59,83	34	4,88

Dari data di atas (**tabel 3**) terlihat distribusi IgG tertinggi di Lampung (88,2%), di 6 propinsi tidak ditemukan IgM anti - toxoplasma: DKI Jaya, Jawa Barat, Jawa Timur, Nusa Tenggara Barat, Kalimantan Barat, dan Sulawesi Tengah, sedangkan distribusi IgM tertinggi di Riau dan Irian Jaya (20,0%).

Untuk melihat persentase kumulatif IgG anti - *Toxoplasma gondii* pada umur ibu hamil dan trimester kehamilan ibu dapat dilihat di **tabel 4** :

Gambaran kumulatif IgG serum ibu hamil terlihat pada grafik

Tabel 4. Presentase IgG berdasarkan umur ibu hamil dan umur kehamilan

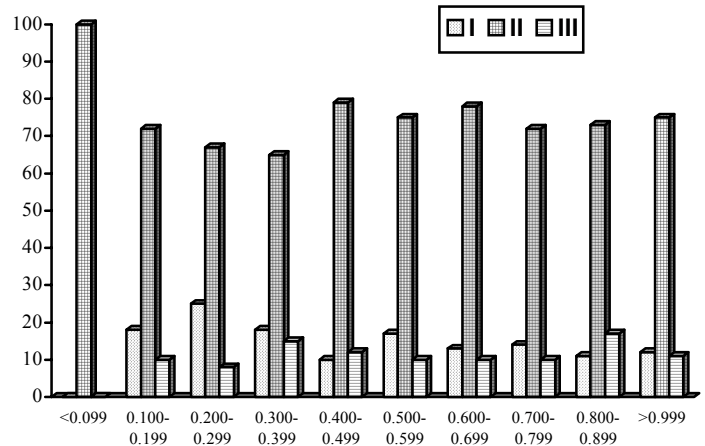
Persentase IgG / Unit	Total	Umur Ibu Hamil (Tahun)			Umur Kehamilan (Semester)		
		< 19	20-34	> 35	I	II	III
(0,099)	2 (0,3)		2 (100,0)		1 (50,0)	1 (50,0)	-
0,100-0,199	115 (16,5)	20 (17,4)	83 (72,2)	12 (10,4)	26 (22,6)	51 (44,3)	38 (33,0)
0,200-0,299	153 (22,0)	37 (24,2)	103 (67,3)	13 (8,5)	35 (22,9)	65 (42,5)	53 (21,6)
0,300-0,399	89 (12,8)	16 (18,0)	59 (66,3)	14 (15,7)	21 (23,6)	35 (39,3)	33 (37,1)
0,400-0,499	69 (9,9)	6 (8,7)	55 (79,7)	8 (11,6)	14 (20,3)	31 (44,9)	24 (34,8)
0,500-0,599	40 (5,7)	6 (15,0)	30 (75,0)	4 (10,0)	10 (10,0)	15 (37,5)	15 (37,5)
0,600-0,699	40 (5,7)	5 (12,5)	31 (77,5)	4 (10,0)	17 (42,5)	17 (42,5)	6 (15,0)
0,700-0,799	35 (5,0)	5 (14,3)	26 (74,3)	4 (11,4)	14 (40,0)	14 (40,0)	16 (45,7)
0,800-0,899	35 (5,0)	4 (11,4)	25 (71,4)	6 (17,1)	16 (45,7)	16 (45,7)	13 (37,1)
> 0,900	119 (17,1)	15 (12,6)	90 (75,6)	14 (11,8)	44 (37,0)	44 (37,0)	47 (39,5)
Total	697 (100,0)	114 (16,4)	504 (72,3)	79 (11,3)	163 (23,4)	289 (41,5)	245 (36,2)

Dalam tabel 4 terlihat bahwa umur ibu hamil kebanyakan sekitar umur 20-34 tahun (504 - 72,3%), dan persentase kumulatif paling tinggi pada trimester kedua (41,5%). Persentase kumulatif tertinggi pada IgG unit 0,200-0,299 (22,0%).

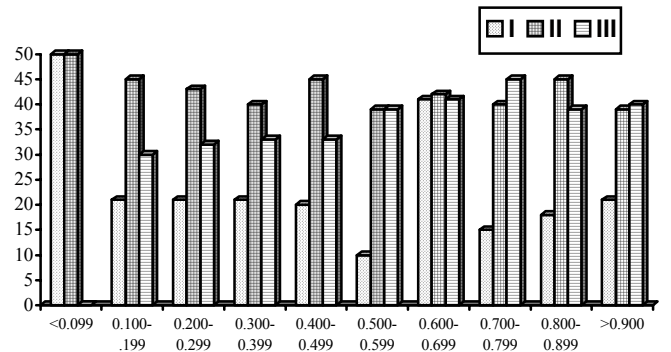
Pada kelompok umur 20-34 tahun persentase kumulatif IgG unit 0,400-0,499 ada pada 55 ibu (79,7%). Pada kelompok

di bawah ini:

Grafik 1. Gambaran kumulatif IgG unit berdasarkan umur ibu hamil



Grafik 2. Persentase IgG berdasarkan trimester kehamilan (analisa lanjut SKRT 1995) di Indonesia



umur kurang 19 tahun pada persentase kumulatif IgG 0,200-0,299 ada pada 37 Bumil (24,2%), sedangkan pada kelompok umur lebih dari 35 tahun persentase kumulatif IgG 0,300-0,399 ada pada 14 Bumil (15,%) dan kumulatif IgG unit > 0,900 pada 14 Bumil (17,7%).

Usia kurang 19 tahun paling banyak pada kumulatif IgG 0,200-0,299 yaitu 37 Bumil (32,4%) dan kumulatif IgG unit

0,100-0,199 sebanyak 20 Bumil (17,5%), usia 20-34 tahun pada kumulatif 0,200-0,299 sebanyak 103 Bumil (20,4%) dan kumulatif IgG unit > 0,900 sebanyak 90 Bumil (17,9%), dan pada kelompok usia di atas 34 tahun yang terbanyak adalah kumulatif IgG 0,300-0,399 - 14 Bumil (17,7%); > 0,900 - 14 Bumil (17,7%); dan 0,200-299 - 13 Bumil (16,4%).

Persentase dan proporsi berdasarkan trimester kehamilan terlihat sama yaitu:

Proporsi yang paling banyak pada trimester pertama adalah kumulatif IgG 0,200-0,299 sebanyak 35 Bumil dan kumulatif IgG unit > 0,900 adalah 28 Bumil; trimester kedua juga pada kumulatif IgG 0,200-0,299 sebanyak 65 Bumil dan kumulatif unit 0,100-0,199 sebanyak 51 Bumil, dan pada trimester ke tiga sama yaitu pada kumulatif IgG unit 0,200-0,299 dan kumulatif IgG unit > 0,900, sedangkan yang lainnya tidak banyak beda.

DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak semua Bumil diambil darahnya. Dari serum yang diperiksa ada 70 tabung yang kosong karena telah dipakai untuk pemeriksaan terhadap penyakit lain. Persentase positif serum ini rendah yaitu 59,8% bila dibandingkan dengan negara maju (15%-85%) padahal di negara berkembang hygienenya masih rendah. Keadaan ini mungkin disebabkan oleh proses penyimpanan serum yang cukup lama dan pencairan serum yang berulang-ulang sehingga akan menurunkan titer antibodi dan menimbulkan konversi titer dari sero positif ke sero negatif. Pemeriksaan darah banyak dilakukan setelah trimester kedua dengan persentase kumulatif serum yang hampir sama sehingga akibat yang terjadi tidak terlihat adanya angka hidrocephalus dan keguguran. Keadaan ini mungkin data serum yang di periksa tidak lengkap sehingga tidak terlihat dalam *dBase*. Kalau proses penyimpanan dan pengambilan darah langsung dilakukan pemeriksaan atau tidak dilakukan pencairan yang berulang-ulang angka-angka ini mungkin akan lebih besar.

Data di atas menjelaskan bahwa hampir tiga per empat persen ibu-ibu hamil terinfeksi toksoplasmosis dan yang paling banyak pada periode organ reproduksi aktivitas tinggi yaitu sekitar umur 20-35 tahun (72,3%). Pada umur di atas 35 tahun aktivitas reproduksi berkurang yaitu proses hormonal menurun sehingga angka IgG menurun (11,3). Dan infeksi yang terjadi banyak setelah trimester kedua atau mungkin kejadian banyak terjadi dalam keadaan khronis dimana pada IgM yang positif tidak memperlihatkan reaksi pada anak yang dilahirkan.

Berkaitan dengan hasil penelitian di atas perlu dilakukan beberapa upaya : a) penyuluhan terhadap masyarakat untuk lebih hygiene terutama bagi ibu-ibu hamil muda (pada kehamilan 3 bulan pertama) b) menghindari sumber-sumber penularan makan yang tidak dimasak dan vektor kucing. c) Dan kalau memungkinkan perlu diadakannya evaluasi pada bayi yang dilahirkan untuk melihat apakah ada kaitan antara IgG dan IgM yang didapat dari ibu hamil d) Dilakukan penelitian faktor yang sangat berpengaruh adanya antibodi *T. gondii* pada orang sebab hampir semua sudah pernah terinfeksi toksoplasma.

KESIMPULAN

1. Persentase kumulatif IgG unit yang paling tinggi adalah

Sulawesi (75,6%) dan Kalimantan (65,0%) dan Irian Jaya (64,0%), sedangkan yang paling rendah adalah Nusa Tenggara Timur. Dan untuk IgM unit yang paling tinggi adalah Irian Jaya (20,0%), Sumatera (7,8%), dan di Kalimantan (3,2%), sedangkan pulau Sulawesi tidak didapatkan IgM pada serum Bumil.

2. Persentase propinsi yang paling tinggi mempunyai kumulatif unit IgG adalah Lampung (81,2%); Kalimantan Timur (81,2%); Nusa Tenggara Timur (80,0%); dan yang paling rendah adalah Nusa Tenggara Barat (28,9%), sedangkan daerah lainnya tidak banyak beda. Persentase propinsi yang paling tinggi mempunyai kumulatif IgM unit adalah Irian Jaya dan Riau (20,0%), Sumatera Barat (12,0%); Lampung dan Jambi (8,0%); Jawa Tengah dan Nusa Tenggara Timur (6,2%-7,3%). Dan propinsi yang tidak ditemukan kumulatif IgM unit adalah daerah DKI Jaya, Jawa Barat dan Sulawesi Tengah.

3. Kebanyakan Ibu hamil mempunyai persentase kumulatif IgG unit 0,200-0,299 sebanyak 153 Bumil (22,0%), kumulatif IgG unit >0,900 sebanyak 119 Bumil (17,1%) dan kumulatif IgG unit 0,100-0,199 sebanyak 115 Bumil (16,5%), sedangkan yang lainnya hampir sama.

Berdasarkan kelompok umur terlihat bahwa kelompok umur 20-34 tahun yang paling banyak dalam pemeriksaan serum yaitu 504 (72,3%) kemudian kelompok umur < 19 tahun yaitu 114 Bumil (16,4%) dan sisanya > 35 tahun yaitu 79 Bumil (11,3%). Proporsi kelompok umur < 19 tahun yang paling tinggi adalah kumulatif IgG 0,200-0,299 sebanyak 37 Bumil (32,4%), begitu pula pada kelompok 20-34 tahun mempunyai kumulatif IgG 0,200-0,299, sedangkan kelompok umur >35 tahun pada kumulatif IgG unit 0,300-0,399 dan > 0,900 yaitu 14 Bumil (17,7%).

4. Berdasarkan trimester kehamilan maka terlihat bahwa serum Bumil yang diperiksa adalah pada trimester kedua adalah 289 Bumil (41,5%), kemudian trimester ketiga 245 Bumil (35,2%), dan sedikit trimester pertama 163 Bumil (23,4%). Persentase ataupun proporsi dari trimester kehamilan tidak terlihat adanya perbedaan tentang kumulatif IgG unit yaitu masing-masing menunjukkan yang paling tinggi dengan urutan sebagai berikut : 0,200-0,299 (sekitar 21,5-22,5%); >0,900 (sekitar 15,2-19,2%) dan 0,100-0,199 (sekitar 15,5-17,6%).

SARAN

1. Penyuluhan pada wanita remaja atau usia subur oleh petugas Puskesmas terutama bagian kebidanan tentang toksoplasmosis serta pencegahannya.
2. Penyuluhan tentang hidup bersih terutama kaum wanita sedini mungkin.
3. Dilakukannya penelitian secara *case-control* pada ibu yang melahirkan abortus atau bayi yang dilahirkan mengalami *hydrocephalus* atau chorioretinitis di rumah sakit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini ditujukan sebagai peringatan hari wafatnya Bapak Drh. Thomas Hartono, Pusat Penelitian Penyakit Tidak Menular (Departemen Kesehatan) serta ucapan terima kasih atas kesediaannya untuk membantu pelaksanaan pengumpulan data dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada semua pihak Subbagian Protozoologi, bagian Parasito-logi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia di Jakarta yang turut membantu pelaksanaan penelitian.

KEPUSTAKAAN

1. Ratna Budiarmo L, dkk. Studi Follow Up Ibu Hamil. Seminar hasil SKRT 1995. Jakarta Februari 1997.
2. Puspenegoro, HD. Toxoplasmosis pada Bayi dan Anak serta penatalaksanaannya. MDK, Vol. 11 No. 8 Agustus 1992.
3. Hartono, Th. Penemuan Toxoplasma gondii dari wanita keguguran di RSCM Jakarta dan RSHS Bandung. Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia tahun XXII, No. 12, 1995.
4. Cornain, S. Diagnosis Immunologic Molekuler Toxoplasmosis, Diskusi Panel Diagnosis dan Terapi Toxoplasmosis, FKUI 13 November 1993.
5. Benerson, A. Control of Communicable Disease in Man. American Public Health and Human Service, Atlanta 1985. Hal. 323-5.
6. Soesbandoro, SDA at. all. Infeksi Toxoplasma pada Ibu-Ibu hamil di RSUD Mataram. Majalah obstetri dan ginekologi Indonesia Vol. 20 No. 4 Oktober 1996; Hal: 254-7.
7. Stephanis Kurniadi Budijanto. Antibodi IgA dan P30 sebagai pertanda pada toxoplasma kongenital dan akut. Majalah Kedokteran Indonesia, Vol. 45 No. 1 Januari 1995.
8. Dubey JP, Beatic JF. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton FL. CRC Press, 1998; hal. 220.
9. Soedarto. Pengaruh waktu penyimpanan sampel serum dan frekuensi cairan ulang serum beku penderita toxoplasmosis yang dapat dilakukan di lapangan adalah metode Hemaglutinasi tidak langsung. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya 1990. Abstrak Penelitian Kesehatan. Seri 10.