

AKURASI METODE RITCHIE DALAM MENDETEKSI INFEKSI CACING SALURAN PENCERNAAN PADA BABI

Kadek Ayu Dwi Suryastini¹, I Made Dwinata², I Made Damriyasa¹

¹ Lab Patologi Klinik Veteriner, ² Lab Parasitologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp, 0361-223791
Email : ayudwi.abadi@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit cacing merupakan salah satu jenis penyakit parasit yang dapat menginfeksi. Cara mendiagnosa infeksi cacing selain dengan melalui gejala klinis dan pemeriksaan post mortem dapat juga dilakukan dengan pemeriksaan feses. Salah satu metode untuk pemeriksaan feses adalah dengan metode Ritchie. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui akurasi metode Ritchie pada pemeriksaan feses babi untuk mendeteksi infeksi cacing pada saluran pencernaan. Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah sampel feses dan isi saluran gastrointestinal babi yang diambil dari Pegunungan Arfak dan Lembah Baliem dengan jumlah sebanyak 22 sampel. Pemeriksaan cacing dilakukan dengan pemeriksaan post mortem sedangkan pemeriksaan feses dilakukan dengan metode Ritchie kemudian dihitung nilai sensitifitas dan spesifisitas. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pemeriksaan post mortem dan pemeriksaan feses maka didapat nilai spesifisitas dan sensitifitas untuk masing-masing jenis cacing pada pemeriksaan feses dengan metode Ritchie secara keseluruhan nilai sensitifitas antara 0%-72% dan spesifisitas 9,09%-72%. Hasil pemeriksaan dengan metode Ritchie pada penelitian ini mempunyai tingkat sensitifitas yang tidak tinggi. Dari hasil yang didapatkan maka dapat disimpulkan untuk jenis cacing telur type Strongyl didapat sensitifitas 72,72% dan spesifisitas

9,09%, untuk cacing *Macracanthorhyncus* didapat sensitifitas 0% dan spesifisitas 75%, untuk cacing *Strongyloides* didapat sensitifitas 44,44 % dan spesifisitas 100%, *Ascaris* didapat sensitifitas 40% dan spesifisitas 64,71% untuk cacing *Trichuris* didapat sensitifitas 63,62% dan spesifisitas 63,63%.

Kata kunci : akurasi metode ritchie, infeksi cacing, cacing pencernaan babi

PENDAHULUAN

Di Indonesia sektor peternakan memiliki peranan yang strategis dalam kehidupan perekonomian dan pembangunan sumberdaya manusia Indonesia. Peranan ini dapat dilihat dari fungsi produk peternakan sebagai penyedia protein hewani yang penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia (Suharyanto, 2007). Salah satu jenis ternak yang dikembangkan oleh masyarakat adalah jenis ternak babi. Pemeliharaan babi di Indonesia pada umumnya masih secara sederhana atau tradisional, contohnya seperti makanannya masih tergantung pada sisa-sisa dari dapur dan ubi-ubian, kurang memperhatikan aspek ekonomisnya sehingga kurang memperhatikan faktor faktor produksi dalam usaha peternakan babi (LIPTAN, 1996).

Sistem pemeliharaan babi yang masih tergolong tradisional seperti inilah yang rentan terhadap infeksi dari berbagai macam penyakit. Keadaan ini mengakibatkan kerugian yang cukup besar pengaruhnya bagi perekonomian peternak. Kerugian akibat adanya infeksi penyakit diantaranya adalah terjadinya penurunan hasil produksi akibat terhambatnya pertumbuhan ternak serta bertambahnya biaya yang harus dikeluarkan untuk pengobatan ternak yang terinfeksi penyakit. Pada ternak babi yang dipelihara dengan cara tradisional sangat rentan terhadap infeksi dari berbagai sumber penyakit (Sihombing, 2006). Penyakit cacing merupakan salah satu jenis penyakit yang dapat menginfeksi babi contohnya seperti infeksi dari *Ascaris suum*, *Strongyloides ransomi*, *Globocephalus urosubulatus*, *Oesophangostomum dentatum*,

Trichuris suis, *Hyoststrongylus rubidus*, *Macracanthorhyncus hirudinaceus* dan *Gnathostoma hispidum* (Kaufman, 1996).

Dampak yang ditimbulkan dari infeksi parasit seperti cacing bagi ternak babi diantaranya seperti terjadinya diare pada babi, gastritis, peritonitis akibat infeksi, anoreksia, penurunan berat badan, kekurusan bahkan pada kasus berat dapat mengakibatkan kematian pada ternak babi (Soulsby, 1982).

Untuk menanggulangi terjadinya infeksi cacing pada ternak babi dapat dilakukan dengan melakukan pengobatan secara dini setelah dilihat adanya gejala klinis yang mencurigakan dan biasanya dilakukan dengan pemberian obat anthelmintik yang cocok dan dianjurkan diulangi delapan minggu kemudian. Selain itu tindakan pencegahan yang paling mudah dilakukan adalah dengan memperhatikan pakan ternak, system perkandangan dan semua aspek manajemen ternak babi yang berpengaruh terhadap kesehatan ternak (Sihombing, 2006).

Cara mendiagnosa infeksi cacing selain dengan melalui gejala klinis dan pemeriksaan post mortem dapat juga dilakukan dengan pemeriksaan feses secara langsung untuk menemukan larva cacing atau telur cacing serta dengan pemeriksaan feses secara tidak langsung untuk deteksi antigen antibodi. Metode pemeriksaan feses dibagi berdasarkan hasil yang ingin didapatkan yaitu hasil yang kualitatif (metode kualitatif) dan hasil yang kuantitatif (metode kuantitatif). Untuk metode kualitatif dapat dilakukan dengan beberapa cara tergantung dengan keperluannya, yaitu pemeriksaan dengan metode apung dan pemeriksaan dengan metode sedimentasi sedangkan untuk metode kuantitatif dikenal dengan dua metode yaitu metode Stoll dan Metode Kato Katz (Natadisastra, 2005). Metode apung dan metode sedimentasi merupakan metode yang baik digunakan untuk mendeteksi infeksi cacing namun pada pemeriksaan jenis cacing seperti *Strongyloides sp.* yang harus segera dilakukan pemeriksaan ini menjadi kurang efektif karena telur akan menetas dalam waktu beberapa jam. Oleh karena itu diperlukan bahan pengawet formalin 4%-10% untuk

mengawetkan telur, dengan penambahan bahan pengawet tersebut maka metode yang dipakai disebut sebagai metode Ritchie (Sandjaja, 2006).

Metode Ritchie merupakan metode yang cukup baik bagi feses yang telah diambil beberapa waktu lalu yang merupakan kiriman dari daerah yang jauh dari laboratorium selain itu dengan menggunakan metode ini dapat menemukan hampir segala jenis parasit (Sandjaja, 2006). Akurasi dari metode ini pada pemeriksaan feses babi belum pernah dilaporkan sehingga perlu untuk dilakukan penelitian.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu : bagaimana akurasi metode Ritchie pada pemeriksaan feses babi untuk mendeteksi infeksi cacing pada saluran pencernaan pada babi?

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui akurasi metode Ritchie pada pemeriksaan feses babi untuk mendeteksi infeksi cacing pada saluran pencernaan.

Hasil dari penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi tentang akurasi metode Sedimentasi Formol Ether (RITCHIE) dalam menetapkan diagnose terhadap infeksi cacing pada saluran pencernaan yang menginfeksi ternak babi serta dapat digunakan sebagai acuan untuk melakukan pengobatan dan upaya pencegahannya.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah sampel feses dan isi saluran gastrointestinal babi yang diambil dari Pegunungan Arfak dan Lembah Baliem dengan jumlah sebanyak 22 sampel, formalin 4%-10%, ether, dan cairan aquades.

Alat yang digunakan diantaranya adalah pot plastic tempat feses, tabung sentrifugi, tutup tabung sentrifugi, pipet Pasteur panjang, objek gelas, dan cover glass, saringan 150 µm, tali, ember penampungan, dan mikroskop.

Metode RITCHIE

Pada pemeriksaan post mortem pengambilan cacing dilakukan dengan mengambil bagian dari saluran pencernaan babi dan dibawa ke laboratorium. Lambung, usus halus dan usus besar diikat untuk mencegah perpindahan cacing dari satu lokasi ke lokasi lainnya. Setelah itu masing-masing organ dipisahkan dengan jalan mengikat pada bagian posterior dan anterior dengan tali agar isi dari masing-masing organ seperti lambung, usus halus dan usus besar tidak keluar, kemudian organ tersebut diiris secara longitudinal pada masing masing-masing permukaan dengan isi beserta mukosa dibilas dengan air dalam saringan 150 μ m, bagian yang tersisa pada saringan ditampung pada ember dan ditambahkan dengan air sehingga volumenya menjadi 1 liter lalu diaduk secara perlahan-lahan supaya merata dan 10% dari volume isi organ tersebut diambil lalu ditaruh didalam botol kecil dan diperiksa sedikit demi sedikit pada cawan petri secara mikroskopis dengan mikroskop stereo untuk memeriksa adanya cacing nematoda. Identifikasi cacing dapat dilakukan dengan melihat ciri morfologi dari cacing yang ditemukan (Levine, 1994).

Pemeriksaan dengan menggunakan metode Ritchie dengan tahapan sebagai berikut :

Ambil sampel feses yang telah diisi formalin kemudian kocok. Saring dengan kain kasa, cairan filtrasi ditampung didalam tabung sentrifugi 15 ml. Sentrifuge, selama 1 menit dengan kecepatan 1000 rpm kemudian supernatannya dibuang. Tambahkan 3 ml ether, tabung ditutup, kemudian kocok sampai teraduk betul (10-20 detik). Sentrifuge selama 1-2 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Ambil dengan pipet sampai perbatasan ether dengan formalin, kemudian cairan dibuang. Pindahkan 1 tetes sedimen pada kaca benda yang sebelumnya sudah ditetesi 1 tetes larutan iodine. Kemudian tutup dengan kaca penutup lalu dilakukan pengamatan terhadap morfologi telur yang ada sehingga dapat diketahui jenis telur cacing yang ditemukan.

Identifikasi telur cacing dilakukan berdasarkan ciri morfologi dari telur cacing (Soulsby 1982; Thienpont 1986).

Akurasi dari Metode Ritchie dalam mendeteksi infeksi cacing saluran pencernaan pada babi ditentukan berdasarkan sensitifitas dan spesifisitas dari metode tersebut. Sebagai gold standar pada penelitian ini adalah temuan cacing pada pemeriksaan post mortem. Untuk menentukan sensitifitas dan spesifisitas ditentukan dengan formula sebagai berikut (Thrusfield, 2007).

Tabel 1. Tabulasi hasil pemeriksaan Nekropsi dan Pemeriksaan feses dengan metode Ritchie

Metode Ritchie	Post Mortem		Jumlah
	Ada	Tidak	
Positif (+)	a	b	a+b
Negatif (-)	c	d	c+d
Jumlah	a+c	b+d	

Keterangan :

- a : Pada pemeriksaan post mortem ditemukan adanya cacing dan pada pemeriksaan feses dengan metode Ritchie ditemukan adanya telur.
- b: Pada pemeriksaan post mortem tidak ditemukan adanya cacing dan pada pemeriksaan feses dengan metode Ritchie ditemukan adanya telur.
- c : Pada pemeriksaan post mortem ditemukan adanya cacing dan pada pemeriksaan feses dengan metode Ritchie tidak ditemukan adanya telur.
- d :Pada pemeriksaan post mortem tidak ditemukan adanya cacing dan pada pemeriksaan feses dengan metode Ritchie tidak ditemukan adanya telur.

Adapun rumus yang digunakan untuk menghitung sensitifitas dan spesifisitas yaitu :

$$\text{Sensitifitas} : \frac{a}{a + c} \times 100\%$$

$$\text{Spesifisitas} : \frac{d}{b + d} \times 100\%$$

Adanya telur cacing pada pemeriksaan feses dan cacing pada saluran pencernaan dengan pemeriksaan post mortem.

Lokasi dilakukannya pemeriksaan dan nekropsi babi di Manokwari dan Wamena Papua. Pemeriksaan laboratorium dilakukan pada bulan Mei 2011 di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari dua puluh dua sampel babi yang diperiksa secara post mortem ditemukan ada beberapa jenis cacing pada saluran pencernaan, seperti yang tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Identifikasi jenis cacing pada masing-masing bagian dari saluran pencernaan babi.

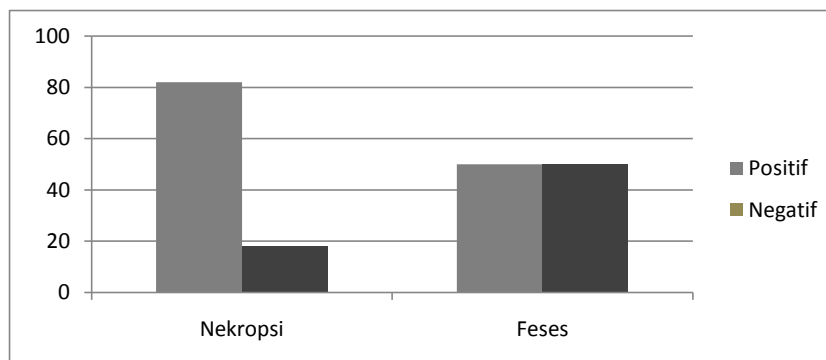
Saluran Pencernaan	Jenis Cacing
Lambung	<i>Gnathostoma hispidum</i>
	<i>Hyostromylus rubidus</i>
Usus Halus	<i>Macracanthorhyncus hirudinaceus</i>
	<i>Globocephalus urosubulatus</i>
	<i>Strongyloides ransomi</i>
	<i>Ascaris suum</i>
Usus Besar	<i>Trichuris suis</i>
	<i>Oesophagostomum dentatum</i>

Dari delapan genus cacing yang teridentifikasi pada pemeriksaan post mortem ditemukan beberapa cacing yang memiliki kemiripan bentuk dan struktur dari telur cacing. Genus cacing yang memiliki kemiripan bentuk dan struktur telur tersebut diantaranya adalah *Gnathostoma*, *Hyostromylus*, *Globocephalus*, dan *Oesophagostomum* sehingga pada identifikasi telur cacing dikelompokkan menjadi kelompok type strongyl (Kaufman, 1996).

Berdasarkan hasil pemeriksaan feses dengan metode Ritchie diperoleh hasil seperti tersaji pada tabel 3.

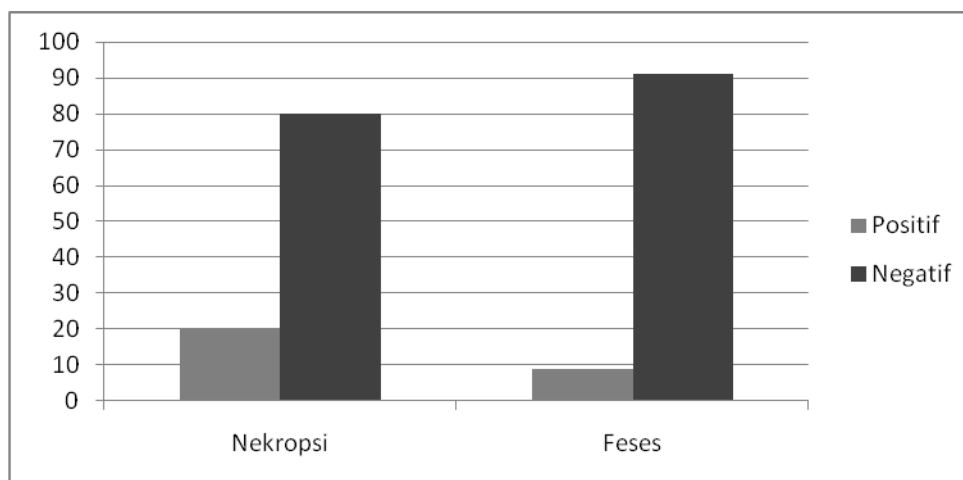
Tabel 3. Hasil pemeriksaan feses dengan metode Ritchie dengan perbandingan identifikasi jenis cacing secara nekropsi .

Jenis Cacing	Nekropsi		Pemeriksaan Feses	
	Positif (+)	Negatif (-)	Positif (+)	Negatif (-)
Type Strongyl	18	4	11	11
<i>Macracanthorhyncus</i> <i>hirudinaceus</i>	5	17	2	20
<i>Strongyloides ransomi</i>	4	18	9	13
<i>Ascaris suum</i>	8	14	5	17
<i>Trichuris suis</i>	11	11	11	11



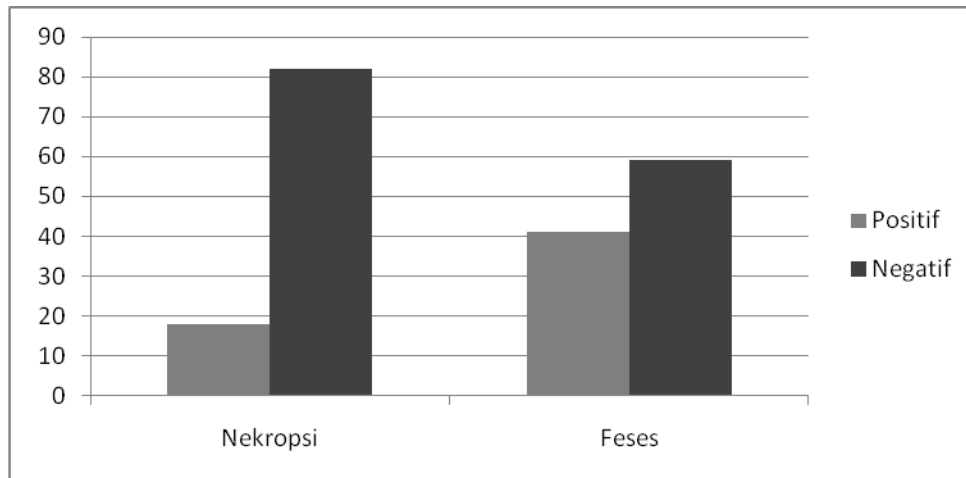
Gambar 1. Hasil pemeriksaan post mortem dan pemeriksaan feses jenis cacing type strongyle.

Pada pemeriksaan post mortem ditemukan 18 dari 22 babi (82%) terinfeksi oleh cacing type strongyl sedangkan pada pemeriksaan feses ditemukan 11 dari 22 babi (50%) terinfeksi oleh cacing type strongyl. Dari hasil tersebut maka didapat sensitifitas 72,72% dan spesifisitas 9,09% dan diketahui bahwa persentase hasil positif dari pemeriksaan nekropsi lebih besar dari pemeriksaan feses.



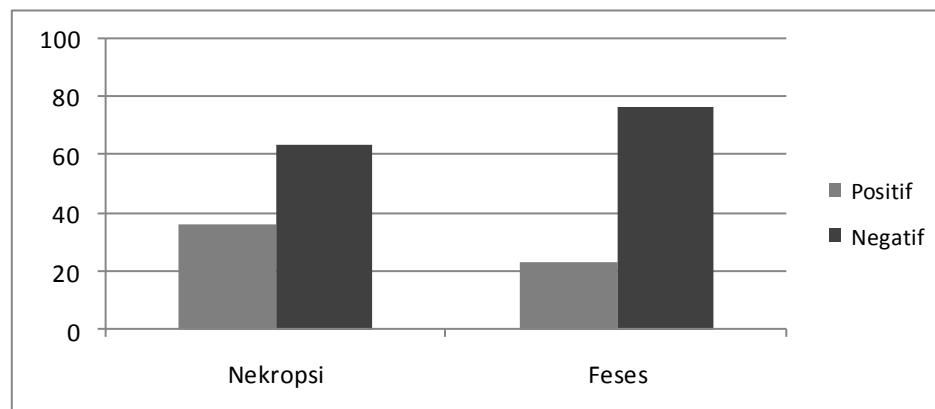
Gambar 2. Hasil pemeriksaan post mortem dan pemeriksaan feses jenis cacing *Macracanthorhynchus*.

Pada pemeriksaan secara nekropsi untuk jenis cacing *Macracanthorhyncus* ditemukan 5 dari 22 babi (20%) terinfeksi oleh cacing *Macracanthorhyncus* sedangkan pada pemeriksaan feses ditemukan 2 dari 22 babi (9%) terinfeksi oleh cacing *Macracanthorhyncus*. Dari hasil tersebut maka didapat sensitifitas 0% dan spesifisitas 75% dan diketahui bahwa persentase hasil positif dari pemeriksaan nekropsi lebih besar dari pemeriksaan feses.



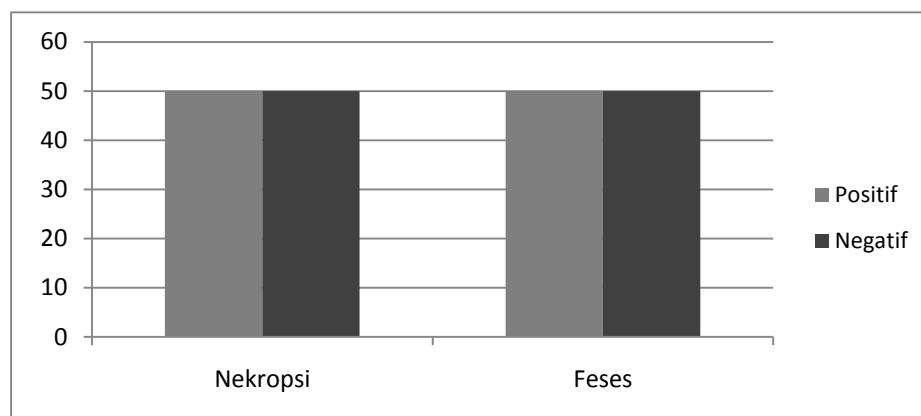
Gambar 3. Hasil pemeriksaan post mortem dan pemeriksaan feses jenis cacing *Strongyloides* .

Pada pemeriksaan secara nekropsi untuk jenis cacing *Strongyloides* ditemukan 4 dari 22 babi (18%) terinfeksi oleh cacing *Strongyloides* sedangkan pada pemeriksaan feses ditemukan 9 dari 22 babi (41%) terinfeksi oleh cacing *Strongyloides*. Dari hasil tersebut maka didapat sensitifitas 44,44 % dan spesifisitas 100% dan diketahui bahwa persentase hasil positif dari pemeriksaan nekropsi lebih kecil dari pemeriksaan feses (gambar 3).



Gambar 4. Histogram hasil pemeriksaan post mortem dan pemeriksaan feses jenis cacing *Ascaris*.

Pada pemeriksaan secara nekropsi untuk jenis cacing *Ascaris* ditemukan 8 dari 22 (36%) terinfeksi oleh cacing *Ascaris* sedangkan pada pemeriksaan feses ditemukan 5 dari 22 (23%) terinfeksi oleh cacing *Ascaris*. Dari hasil pemeriksaan tersebut didapat sensitifitas 40% dan spesifisitas 64,71% dan diketahui bahwa persentase hasil positif dari pemeriksaan nekropsi lebih besar daripada pemeriksaan feses.



Gambar 5. Histogram hasil pemeriksaan post mortem dan pemeriksaan feses jenis cacing *Trichuris*

Pada pemeriksaan secara nekropsi untuk jenis cacing *Trichuris* ditemukan 11 dari 22 babi (50%) terinfeksi oleh cacing *Trichuris* sedangkan pada pemeriksaan feses juga ditemukan 11 dari 22 babi (50%) terinfeksi oleh cacing *Trichuris*. Dari hasil pemeriksaan tersebut didapat sensitifitas 63,62% dan spesifisitas 63,63% dan diketahui bahwa persentase hasil positif dari pemeriksaan nekropsi sama besar dengan pemeriksaan feses.

Dari dua puluh dua ekor babi pada pemeriksaan nekropsi ditemukan adanya delapan genus cacing pada saluran pencernaan diantaranya *Gnathostoma*, *Hyostromylus*, *Macracanthorhyncus*, *Globocephalus*, *Strongyloides*, *Ascaris*, *Trichuris*, dan *Oesophagostomum*. Hasil pemeriksaan feses dengan menggunakan metode Ritchie menunjukkan tingkat sensitifitas dan spesifisitas yang berbeda-beda tergantung dari genus cacing. Hasil pemeriksaan feses babi untuk type Strongyl didapat sensitifitas 72,72% dan spesifisitas 9,09%, cacing *Macracanthorhyncus sp.* didapat sensitifitas 0% dan spesifisitas 75%, cacing *Strongyloides sp.* didapat sensitifitas 44,44 % dan spesifisitas 100%, *Ascaris sp.* didapat sensitifitas 40% dan spesifisitas 64,71% dan cacing *Trichuris sp.* didapat sensitifitas 63,62% dan spesifisitas 63,63%. Hasil pemeriksaan dengan metode Ritchie pada penelitian ini mempunyai tingkat sensitifitas yang lebih rendah daripada metode pengapungan yang dilakukan oleh Tiwari dan Chickweto (2009) terhadap babi di Grenada, India barat, hasil ini juga diperkuat oleh pemeriksaan Uga et al (2010) yang menyatakan bahwa akurasi metode ini tidak tinggi. Perbedaan tingkat sensitifitas dan spesifisitas yang berbeda ini dapat disebabkan oleh banyak faktor diantaranya intensitas cacing pada pemeriksaan post mortem, stadium perkembangan cacing, jenis kelamin cacing, temperature dan lama penyimpanan sampel.

Tingkat sensitifitas dari infeksi cacing *Macracanthorhyncus* 0% pada penelitian ini dapat terjadi karena pada pemeriksaan secara nekropsi didapatkan jumlah cacing yang relatif sedikit atau kemungkinan cacing belum mencapai stadium

dewasa. Faktor lain dapat terjadi apabila jenis kelamin cacing yang menginfeksi hanya cacing jantan sehingga tidak ditemukan adanya telur pada feses (Poulin and Morand, 2000).

Tingkat sensitifitas dari infeksi cacing *Ascaris sp.* 40% dan *Strongyloides* 44,44 % pada penelitian ini juga dapat terjadi karena faktor yang sama selain itu juga dapat dikarenakan terjadinya kerusakan telur akibat temperatur yang tidak sesuai dan media bahan pengawet sampel babi yang tidak mampu memperthankan struktur telur cacing yang mempunyai dinding tipis sehingga mempengaruhi hasil identifikasi pada waktu pemeriksaan (Soch et al, 2010).

Secara Keseluruhan dapat dikatakan dalam penelitian ini bahwa metode Ritchie dalam mendeteksi keberadaan infeksi cacing gastrointestinal pada babi mempunyai sensitifitas dibawah 80%. Hal ini disebabkan selain beberapa faktor yang telah dijelaskan diatas, juga dapat dipengaruhi oleh jumlah sampel yang relatif sedikit dan lamanya penyimpanan.

SIMPULAN

Dari hasil yang didapatkan maka dapat disimpulkan bahwa hasil pemeriksaan feses babi untuk type Strongyl didapat sensitifitas 72,72% dan spesifisitas 9,09%, cacing *Macracanthorhyncus sp.* didapat sensitifitas 0% dan spesifisitas 75%, cacing *Strongyloides sp.* didapat sensitifitas 44,44 % dan spesifisitas 100%, *Ascaris sp.* didapat sensitifitas 40% dan spesifisitas 64,71% dan cacing *Trichuris sp.* didapat sensitifitas 63,62% dan spesifisitas 63,63%.

SARAN

Metode Ritchie kurang sensitive untuk mendiagnosa infeksi cacing saluran pencernaan pada babi karena mempunyai sensitifitas yang kurang tinggi. Perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut tentang media pengawet yang digunakan pada pemeriksaan dengan metode tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Kaufman, Dr. J. 1996. *Parasitic Infectious of Domestic Animal*. ILRI. Germany
- Levine, D Norman. 1994. *Parasitologi Veteriner*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- LIPTAN. *Beternak Babi*. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/agritek/ppua0122.pdf>. Tanggal akses 23 Maret 2011
- Natadisastra, Djaenudin. 2005. *Parasitologi Kedokteran Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang*. 2nd ed. vol 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Poulin, R., dan S. Morand. 2000. *Testes size, body size and male-male competition in Acanthocephalan parasites*. *Journal of Zoology*, 250: 551-558.
- Sandjaja. 2006. *Protozoologi Kedokteran*. 1st ed vol 1. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta
- Sandjaja. 2006. *Helminthologi Kedokteran*. 2st ed vol 2. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta
- Sihombing. D.T.H. 2006. *Ilmu Ternak Babi*. 2nd ed. vol 2. Gadjah Mada University Press. Bogor
- Soch M, Lukesova D, dan Stastna J. 2011. *The Occurance and Survival of Parasitic Causative Agents in Slurry*.
http://www.agriculturaitz.czu.cz/pdf_files/vol_44_2_pdf/soch.pdf.
Tanggal akses 11 September 2011
- Soulsby, E.J.L. 1982. *Helminths Arthropods and Protozoa of Domestic Animals*. Bailliere Tindall. United States America.
- Suharyanto. 2007. *Pengembangan Peternakan Integratif*.
<http://suharyanto.files.wordpress.com/2009/11/jadi-ss-klas-peternakan-bkl.pdf>. Tanggal akses 23 Maret 2011
- Thienpont, D, F Rochette, dan O.F. J Vanparijs. 1986. *Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination*. Janssen Research Foundation. Belgium
- Thrusfield. 2007. *Veterinary Epidemiology*. 3rd ed. Blackweel Publish.

Tiwari, P Keshaw dan Alfred Chickweto. 2009. *Prevalence of intestinal parasites in pigs in Grenada, West Indies*. <http://sta.uwi.edu/fms/vet/documents/4.pdf>. Tanggal akses 11 September 2011

Uga S, Tanaka K dan Iwamoto N. 2010. *Evaluation and modification of the formalin–ether sedimentation technique*. http://www.msptm.org/files/177_-_184_Uga_S.pdf. Tanggal akses 11 September 2011