

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Malaria

Malaria adalah penyakit yang mengancam jiwa yang disebarkan ke manusia oleh beberapa jenis nyamuk. Malaria banyak ditemukan di negara-negara tropis. Malaria disebabkan oleh parasit melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi, transfusi darah dan jarum yang terkontaminasi (WHO, 2016).

2. Siklus Plasmodium

a. Fase Sporogoni

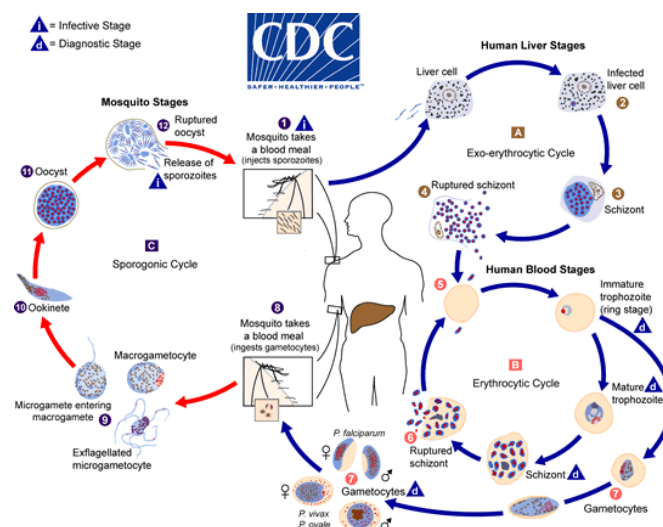
Fase sporogoni terjadi di dalam tubuh nyamuk betina secara seksual. Pada tubuh nyamuk, spora berubah menjadi makrogamet dan mikrogamet. Kemudian bersatu membentuk zigot. Zigot berubah menjadi ookinet yang menembus dinding usus tengah nyamuk dimana akan berkembang menjadi ookista. Ookista tumbuh, pecah dan melepaskan sporozoit, kemudian bergerak menuju kelenjar liur nyamuk. Sporozoit ini akan menghasilkan spora seksual yang akan masuk dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk (Depkes RI, 2019).

b. Fase Skizogoni

Fase skizogoni terjadi di dalam tubuh manusia. Setelah tubuh manusia terkena gigitan nyamuk malaria, sporozoit masuk ke dalam

darah manusia dan menuju sel-sel hati. Hal ini merupakan siklus ekso-eritrositer dimana di dalam hati sporozoit akan menginfeksi dan matang menjadi skizon. Skizon yang pecah melepaskan merozoit.

Selanjutnya terjadi siklus eritrositer dimana merozoit akan menyerang atau menginfeksi eritrosit. Di dalam eritrosit, merozoit akan mengalami multiplikasi aseksual. Merozoit akan terus membelah diri dan menghasilkan banyak merozoit. Dengan demikian, menyebabkan eritrosit menjadi rusak, pecah dan mengeluarkan merozoit baru. Merozoit ini dapat membentuk gametosit apabila terisap oleh nyamuk (pada saat menggigit) sehingga siklus akan terulang lagi di dalam tubuh nyamuk, demikian seterusnya (Depkes RI, 2019).



Gambar 1. Siklus Plasmodium

Sumber: malaria_LifeCycle.gif (543×435) (cdc.gov)

3. Jenis Plasmodium

Beberapa kasus tertentu seorang penderita malaria dapat dihindari oleh lebih dari satu jenis plasmodium. Infeksi tersebut disebut infeksi campuran. Biasanya campuran antara *Plasmodium falciparum* dan

Plasmodium vivax serta *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium malariae*.

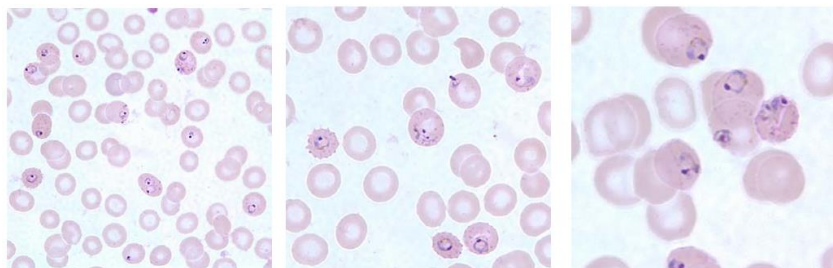
Terdapat lima jenis spesies parasit malaria yang dapat menginfeksi sel darah manusia dalam Depkes RI (2019) yaitu:

a. *Plasmodium falciparum*

Plasmodium falciparum penyebab malaria tropika yang sering menyebabkan penyakit malaria berat. Eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* pada sediaan darah tipis tidak membesar. Stadium trophozoit biasa berbentuk cincin dengan sitoplasma tipis berwarna biru pucat dan inti sel berupa titik kecil sebanyak 1-2 titik berwarna merah. Pada stadium skizon jarang dijumpai kecuali pada kasus malaria berat, memiliki merozoit sebanyak 18-23 serta pigmen berwarna hitam kecoklatan gelap. Stadium gametosit dapat ditemui dengan bentuk seperti pisang. Pada mikrogametosit (jantan) memiliki ukuran lebih kecil daripada makrogametosit (betina) (Prasetyo, Raden Heru, 2004).

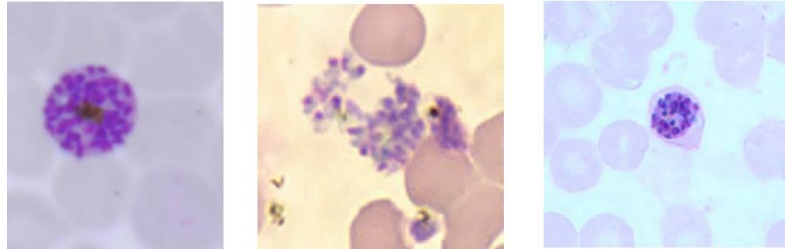
Rings

P. falciparum rings have delicate cytoplasm and one or two small chromatin dots. Rbcs that are infected are not enlarged; multiple infection of rbcs is more common in *P. falciparum* than in other species. Occasional appliqué forms (rings appearing on the periphery of the rbc) can be present.

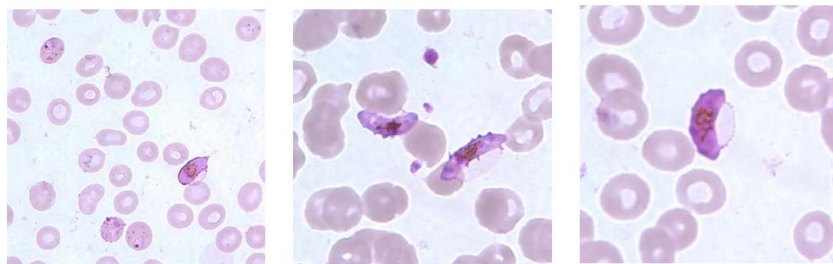


Schizonts

P. falciparum schizonts are seldom seen in peripheral blood. Mature schizonts have 8 to 24 small merozoites; dark pigment, clumped in one mass.

**Gametocytes**

P. falciparum gametocytes are crescent or sausage shaped. The chromatin is in a single mass (macrogamete) or diffuse (microgamete).



Gambar 2. Morfologi *Plasmodium falciparum*
Sumber: [Pfalciparum_benchaidV2.pdf \(cdc.gov\)](#)

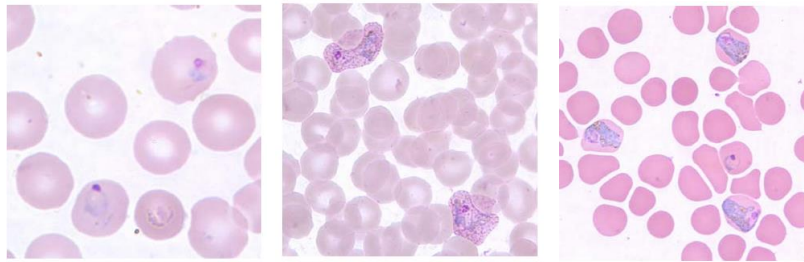
b. *Plasmodium vivax*

Plasmodium vivax penyebab malaria tertiana yaitu gejala demam yang selalu terjadi setiap hari kedua. Pada stadium trophozoit memiliki bentuk cincin, ukuran eritrosit terinfeksi lebih besar daripada eritrosit normal. Memasuki fase stadium trophozoit tua, plasmodium berbentuk irregular dan memiliki titik schuffer. Plasmodium pada stadium skizon berbentuk bulat mengisi hampir seluruh eritrosit, plasma padat tidak bervakuola, inti membelah sejumlah 12-18 merozoit. Stadium mikrogametosit (jantan) berbentuk bulat, inti besar pucat dan menyebar, plasma pucat berwarna biru hingga merah muda serta pigmen plasmodium menyebar. Stadium makrogametosit (betina) berbentuk

lonjong atau bulat, ukuran lebih besar dari mikrogametosit, inti kecil, plasma tampak biru dan pigmen tersebar (Prasetyo, Raden Heru, 2004).

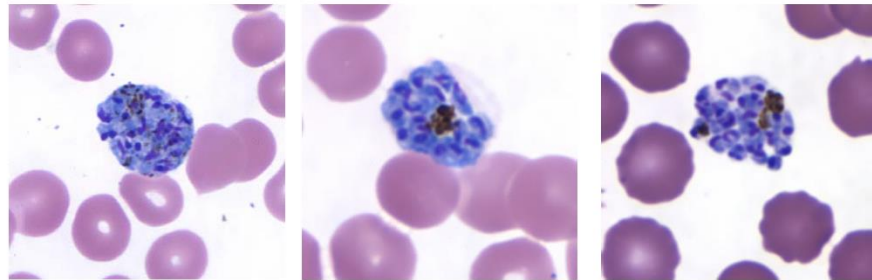
Trophozoites

P. vivax trophozoites show amoeboid cytoplasm, large chromatin dots, and have fine, yellowish-brown pigment. Schüffner's dots may appear more fine in comparison to those seen in *P. ovale*.



Schizonts

P. vivax schizonts are large, have 12 to 24 merozoites, yellowish-brown, coalesced pigment, and may fill the rbc.

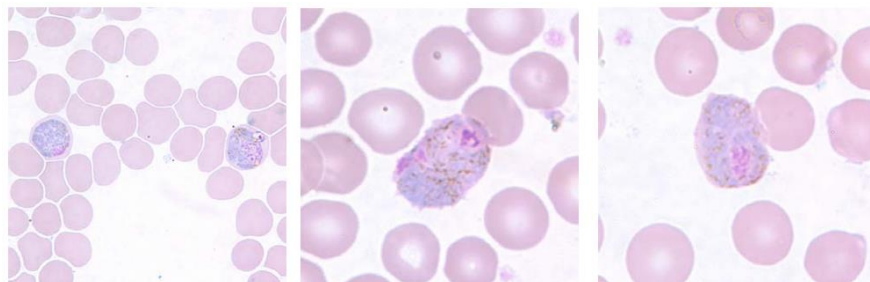


Immature schizont in a thin blood smear.

Mature schizonts in thin blood smears.

Gametocytes

P. vivax gametocytes are round to oval with scattered brown pigment and may almost fill the rbc. Schüffner's dots may appear more fine in comparison to those seen in *P. ovale*.



A pair of gametocytes in a thin blood smear.

Gametocytes in thin blood smears. Note the enlargement of the infected rbc and the scattered pigment.

Gambar 3. Morfologi *Plasmodium vivax*
Sumber: [Pvivax_benchaidV2.pdf \(cdc.gov\)](#)

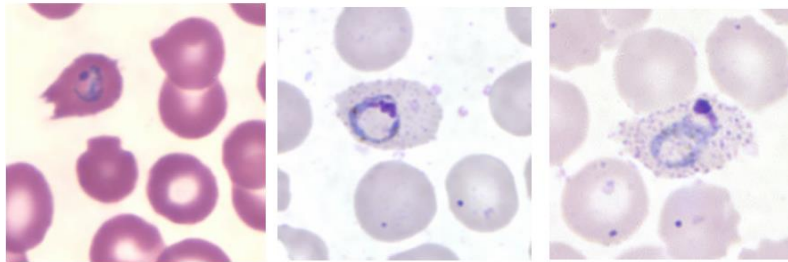
c. *Plasmodium ovale*

Plasmodium ovale penyebab malaria tertiana yaitu gejala demam yang selalu terjadi setiap hari kedua. Pada stadium tropozoit

memiliki bentuk khas cincin padat, berukuran 1/3 eritrosit. Kemudian stadium skizon memiliki ukuran yang hampir mengisi 3/4 eritrosit, memiliki merozoit 8-12 (rata-rata 8), berbentuk rosette atau susunan tidak teratur. Berkembang menjadi stadium mikrogametosit, ukuran plasmodium sebesar eritrosit, berbentuk bulat padat, sitoplasma berwarna biru. Sedangkan pada stadium makrogametosit, plasmodium berbentuk bulat sebesar eritrosit dan inti eksentris (Prasetyo, Raden Heru, 2004).

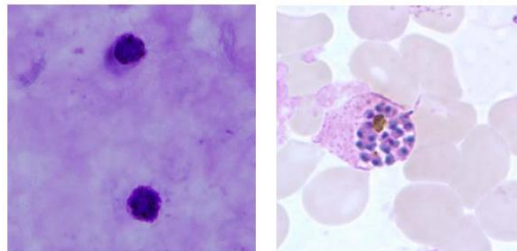
Trophozoites

P. ovale trophozoites have sturdy cytoplasm, large chromatin dots, and can be compact to slightly irregular.



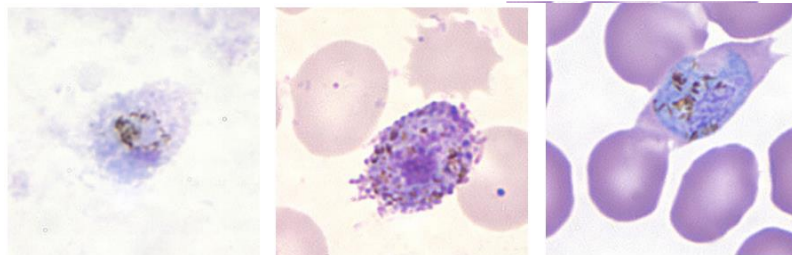
Schizonts

P. ovale schizonts have 6 to 14 merozoites with large nuclei, clustered around a mass of dark-brown pigment.



Gametocytes

P. ovale gametocytes are round to oval and may almost fill the red blood cells. Pigment is brown and more coarse in comparison to *P. vivax*.



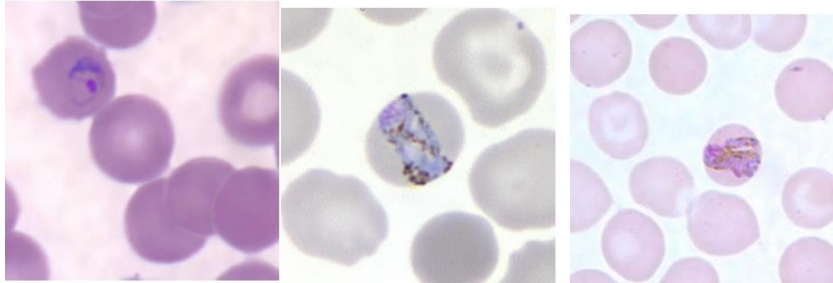
Gambar 4. Morfologi *Plasmodium ovale*
Sumber: [Povale_benchaidV2.pdf \(cdc.gov\)](#)

d. *Plasmodium malariae*

Plasmodium malariae penyebab malaria quartana. Stadium trophozoit sering dijumpai dalam bentuk cincin. Pada fase stadium skizon, plasmodium berbentuk seperti bunga mawar (*rossete*), merozoit berjumlah 6-12 dengan pigmen berkumpul di tengah. Stadium mikrogametosit berbentuk bulat, inti besar menyebar dan sitoplasma berwarna merah muda. Stadium makrogametosit memiliki bentuk lonjong atau bulat, sitoplasma berwarna biru (Prasetyo, Raden Heru, 2004).

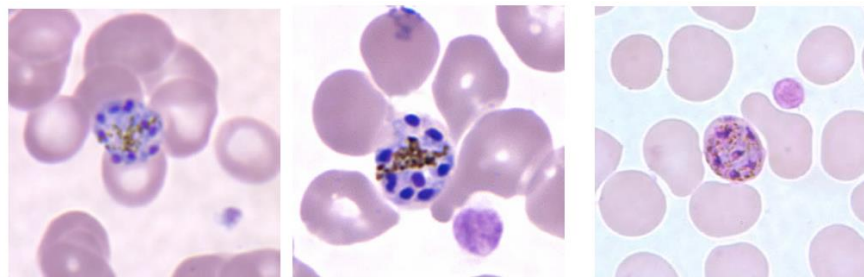
Trophozoites

P. malariae trophozoites have compact cytoplasm and a large chromatin dot. Occasional band forms and/or "basket" forms with coarse, dark-brown pigment can be seen.



Schizonts

P. malariae schizonts have 6 to 12 merozoites with large nuclei, clustered around a mass of coarse, dark-brown pigment. Merozoites can occasionally be arranged as a rosette pattern.

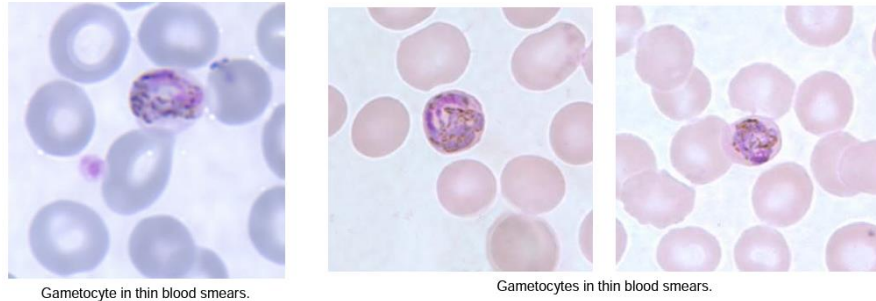


Schizonts in thin blood smears. The schizont on the left has the appearance of a rosette pattern.

Schizont in a thin blood smear; note the rosette pattern of the merozoites.

4. Gametocytes

P. malariae gametocytes are round to oval with scattered brown pigment; they may almost fill the infected red blood cell.

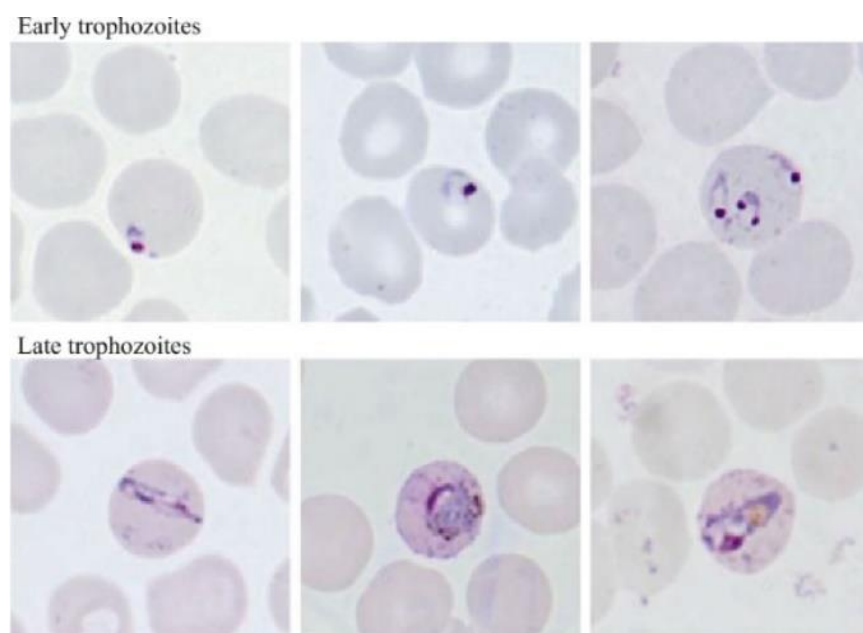


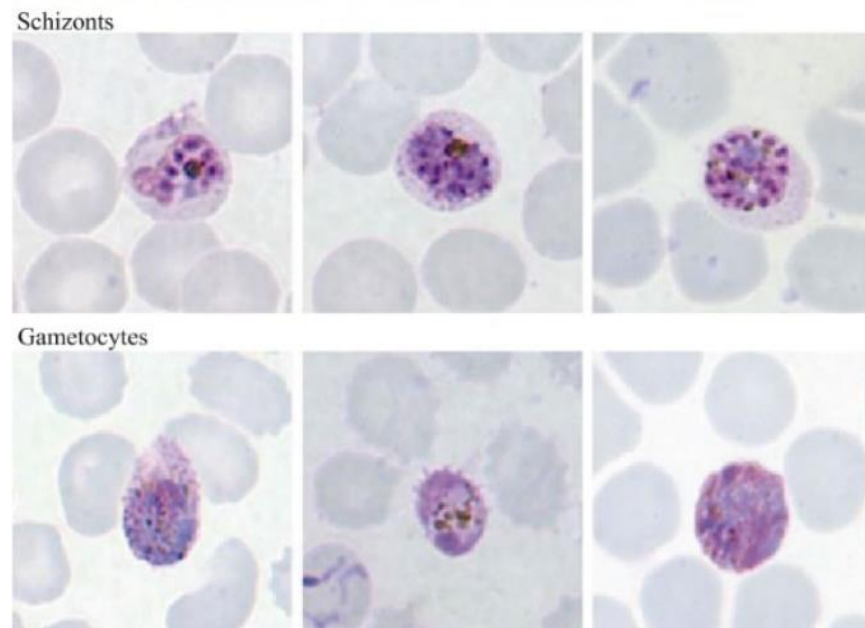
Gambar 5. Morfologi *Plasmodium malariae*

Sumber: [Pmalariae_benchaidV2.pdf \(cdc.gov\)](#)

e. *Plasmodium knowlesi*

Plasmodium knowlesi adalah plasmodium yang umum menginfeksi kera ekor panjang dan kera ekor babi di wilayah Asia Tenggara. Infeksi *Plasmodium knowlesi* secara mikroskopis sulit dibedakan dengan plasmodium lainnya karena secara morfologi sangat mirip dan parasitemianya sangat rendah. Sehingga metode yang paling akurat dalam diagnosis *Plasmodium knowlesi* adalah metode PCR (Asmara, I Gede Yasa, 2018).





Gambar 6. Morfologi *Plasmodium knowlesi*
 Sumber: Lee KS, Vythilingam I (2013)

4. Pemeriksaan Laboratorium

a. Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Pemeriksaan PCR dalam identifikasi parasit malaria menunjukkan PCR lebih sensitif dan lebih spesifik dibanding pemeriksaan mikroskopis terutama pada infeksi campuran dan infeksi dengan parasitemia yang lebih rendah (Badaby *et al*, 2009; Snounou and Singh, 2002; Adel *et al*, 2014; Alemu *et al*, 2014 dalam Hanina, 2018).

b. Pemeriksaan *Rapid Diagnostic Test* (RDT)

Prinsip pemeriksaan RDT berdasarkan deteksi antigen parasit malaria dengan metode imunokromatografi. Pemeriksaan dilakukan saat terjadi kejadian luar biasa (KLB) dan di daerah yang tidak memiliki fasilitas laboratorium mikroskopis (Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020).

c. Pemeriksaan Mikroskopis

Plasmodium sp. merupakan parasit yang bersifat parasit dan berukuran mikroskopis sehingga hanya dapat diamati melalui mikroskop. Dalam menemukan parasit dalam darah penderita maka diperlukan preparat darah penderita malarian untuk menemukan jenis dan stadium parasit *Plasmodium sp.* (Permenkes RI, 2013).

Menurut Safar, R (2009), ada dua jenis sediaan darah malaria yaitu sediaan darah tipis dan sediaan darah tebal. Sediaan darah tipis membutuhkan sedikit darah untuk pemeriksaan, kualitas morfologi lebih jelas dengan didapatkan bentuk parasit utuh berupa *Plasmodium sp.* berada di dalam sel eritrosit, spesies dan stadium *Plasmodium sp.* mudah ditentukan, perubahan ukuran dan warna sel eritrosit yang terlihat jelas.

Sedangkan sediaan darah tebal lebih banyak membutuhkan darah untuk pemeriksaan dibanding dengan sediaan darah tipis, jumlah parasit yang ditemukan lebih banyak dalam satu lapang pandang sehingga pada infeksi ringan lebih mudah ditemukan, morfologi sel darah tidak lengkap dan bentuk parasit kurang terlihat jelas (Sandjaja, B., 2007).



Gambar 7. Sediaan Darah Tebal Dan Tipis

Sumber: <https://www.infolabmed.com/2017/03/cara-pemeriksaan-darah-apus-tipis-dan.html>

Kriteria hasil sediaan darah malaria yang baik baik secara makroskopis dan mikroskopis meliputi:

- 1) Panjang dan lebar sediaan tidak memenuhi seluruh *object glass* sehingga masih ada tempat untuk peletakan label.
- 2) Secara granula penebalan berangsur-angsur menipis dari kepala hingga ekor.
- 3) Ujung atau ekor tidak membentuk bendera sobek.
- 4) Tidak berulang karena bekas lemak ada di atas *object glass*.
- 5) Tidak terlalu tebal (karena sudut hapusan yang sangat kecil) atau tidak terlalu tipis (karena sudut hapusan yang sangat besar).

Sediaan yang telah dibuat dilakukan fiksasi dan pewarnaan Giemsa. Preparat diberi tetesan minyak imersi dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 100x. Jika ditemukan parasit maka pasien dinyatakan positif malaria. Sehingga dalam melakukan pemeriksaan malaria secara mikroskopis petugas laboratorium harus memiliki keterampilan yang baik (Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020).

Perhitungan jumlah *Plasmodium sp.* menurut Permenkes RI (2013) dapat dilakukan secara semi kuantitatif dan kualitatif.

1) Semi Kuantitatif

- (-) = negatif (tidak ditemukan parasite dalam 100 LPB (lapang pandang besar))
- (+) = positif 1 (ditemukan 1-10 parasit dalam 100 LPB)

(++) = positif 2 (ditemukan 11-100 parasit dalam 100 LPB)

(+++)= positif 3 (ditemukan 1-10 parasit dalam 1 LPB)

(++++)= positif 4 (ditemukan >10 parasit dalam 1 LPB)

2) Kuantitatif

Jumlah parasit dihitung per mikro liter darah pada sediaan darah tebal (leukosit) atau sediaan darah tipis (eritrosit). Contohnya jika ditemukan 1.500 parasit/200 leukosit sedangkan jumlah leukosit 8.000/ μ l maka $\frac{8.000}{200} \times 1.500$ parasit = 60.000 parasit/ μ l. Atau jika dijumpai 50 parasit/1000 eritrosit dengan jumlah eritrosit 4.500.000/ μ l maka perhitungannya $\frac{4.500.000}{1000} \times 50$ parasit = 225.000 parasit/ μ l.

5. Fiksasi

Fiksasi adalah proses melekatkan sel darah dalam bentuk sediaan darah tipis pada *object glass* sehingga morfologi sel tetap bertahan tanpa mengubah keadaan sebenarnya dan pewarna Giemsa menyerap sempurna (Rudyatmi, 2011). Zat yang digunakan dalam proses fiksasi adalah methanol absolut.

Salah satu cara pemeriksaan mutu methanol absolut yaitu dengan alat ukur densitometer untuk mengukur berat jenis methanol absolut (BJ=0,792 – 0,793). Methanol absolut disimpan dalam wadah kaca gelap dan tertutup rapat pada suhu dibawah titik didih 60°C (Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020).

6. Pewarna Giemsa

a. Pengertian

Pewarnaan sediaan dilakukan dengan menggunakan pewarna Giemsa. Prinsip dari pewarna Giemsa adalah terbentuknya presipitasi hitam dari penambahan larutan. Giemsa merupakan zat warna yang terdiri atas Eosin dan Metilen Azur yang memberi warna merah muda pada nucleus serta Metilen Blue memberi warna biru pada sitoplasma. Larutan methanol dan gliserin digunakan untuk melarutkan ketiga jenis zat warna tersebut. Larutan dikemas dalam bentuk Giemsa *stock* yang harus diencerkan sebelum digunakan. Komponen pewarna Giemsa akan larut sempurna dalam waktu 40-90 menit menggunakan buffer. Kemudian komponen pewarna akan mengendap dengan beberapa diantaranya kembali kepermukaan membentuk lapisan tipis seperti minyak. Giemsa *stock* tidak boleh dikocok atau diaduk karena kristal Giemsa akan tercampur dan menjadi artefak dalam sediaan yang diwarnai, serta tidak boleh tercemar oleh air (Barcia, J J., 2007).

b. Uji Kualitas

Ada dua cara untuk menentukan kualitas/mutu Giemsa yang akan digunakan masih berkualitas (Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020):

- 1) Pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan pewarnaan pada 1-2 sediaan. Jika hasil sesuai standar pewarnaan, maka Giemsa masih

dapat digunakan. Uji kualitas harus selalu dilakukan setiap kali melakukan pewarnaan masal.

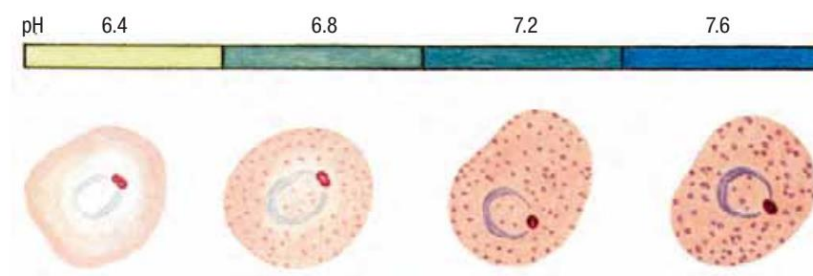
- 2) Menguji dengan kertas Whatman no.2 dan methanol (metil alkohol):
 - a) Bagian tengah kertas saring tidak menyentuh sesuatu saat diletakkan diatas gelas atau petridisk/cawan petri.
 - b) Teteskan 1-2 tetes Giemsa *stok* pada kertas saring. Biarkan hingga menyebar dan meresap.
 - c) Selanjutnya teteskan secara perlahan 3-4 tetes methanol absolut ke tengah bulatan Giemsa dengan selang waktu beberapa detik hingga Giemsa berdiameter 5-7 cm. Kemudian akan terbentuk: lingkaran biru (methilen blue) ditengah, diikuti lingkaran cincin ungu (methilen azur) diluarnya, serta lingkaran berwarna merah tipis (eosin) pada bagian tepi. Apabila warna ungu atau merah tidak terbentuk maka Giemsa sudah rusak dan tidak boleh dipergunakan kembali.

7. *Potencial of Hydrogen* (pH)

Derjat keasaman atau disebut dengan pH merupakan derajat keasam atau kebasaan yang dimiliki suatu zat. pH diukur dari skala 0 sampai 14. Nilai pH suatu zat berhubungan dengan perbandingan konsentrasi ion hidrogern $[H^+]$ dan ion hidroksil $[OH^-]$. Apabila konsentrasi H^+ lebih besar daripada OH^- maka zat bersifat asam dengan nilai $pH \leq 7$. Jika H^+ dan OH^- memiliki konsentrasi sama maka zat bersifat normal yaitu dengan nilai pH

7. Dan apabila konsentrasi H^+ lebih kecil dibanding OH^- maka zat bersifat basa yang bernilai $pH \geq 7$ (Ngafiffudin, Muchammad., 2017).

Pewarna Giemsa dibutuhkan larutan pengencer yang memiliki pH stabil. Dimana perbedaan pH akan memberikan hasil pewarnaan yang bervariasi. Larutan yang terlalu asam akan memberikan warna yang memudar atau pucat sedangkan pH basa memberikan warna gelap jika dibandingkan pada pH 7,2. Adapun gambaran pengaruh pH pada morfologi parasit sebagai berikut (WHO, 2016):



Gambar 8. Pengaruh pH pada Morfologi Parasit
Sumber: Basic Malaria Microscopy Part I. Learner's Guide

8. Larutan Pengencer

a. Larutan Buffer (pH 7,2)

Larutan buffer merupakan larutan yang bersifat mempertahankan pH (Utami, Sri., 2011). Menurut Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (2020) larutan buffer dibuat dengan melarutkan satu tablet buffer phosphate (pH 7,2) dalam satu liter aquades atau air mineral (air kemasan) yang jernih, tidak berbau dan tidak berasa. Larutan Giemsa *stock* dapat diencerkan dengan larutan ini.

Uji pH Larutan buffer dapat menggunakan kertas lakmus, pH indicator, pH meter (larutan buffer yang digunakan memiliki pH 7,2).

b. Aquadest

Aquadest merupakan air yang telah disuling atau melewati proses destilasi. Aquadest merupakan air murni yang diasumsikan hanya mengandung molekul H₂O dan tidak mengandung unsur lain seperti ion. Aquadest adalah air yang disebut sebagai pelarut universal karena mampu melarutkan banyak zat kimia. Air berada dalam kesetimbangan yang dinamis antara fase padat dan fase cair di bawah tekanan dan temperature standar. Air mudah terkontaminasi karena mudah larut atau menyerap berbagai partikel yang ditemuinya (SNI 3553, 2015). Uji pH aquadest dapat menggunakan kertas lakmus, pH indikator, pH meter (Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020).

c. Air Mineral Kemasan

Menurut SNI 3553 (2015) air mineral kemasan adalah air minum dalam kemasan yang telah diproses tanpa bahan pangan lainnya dan bahan tambahan pangan, dikemas, serta aman diminum. Air mineral kemasan merupakan produk yang dikemas dalam wadah tertutup rapat, sehingga tidak mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan. Salah satu syarat mutu air mineral kemasan yaitu tidak berbau, rasa normal dan warna maksimal 5 unit Pt-Co serta kekeruhan maksimal 1,5 NTU.

Uji pH air mineral kemasan dapat menggunakan kertas lakmus, pH indicator, dan pH meter (Dirjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020). Adapun daftar nilai pH dari berbagai merek air mineral kemasan yang beredar di Indonesia sebagai berikut (data peneliti):

Tabel 1. Nilai pH Berbagai Merek Air Minum Kemasan

No	Merek Air Mineral Kemasan	pH
1.	Aqua	7,28
2.	Le Mineral	7,66
3.	Nestle Pure Life	7,34
4.	Vit	7,18
5.	Alfamart	6,86

9. Kualitas Sediaan

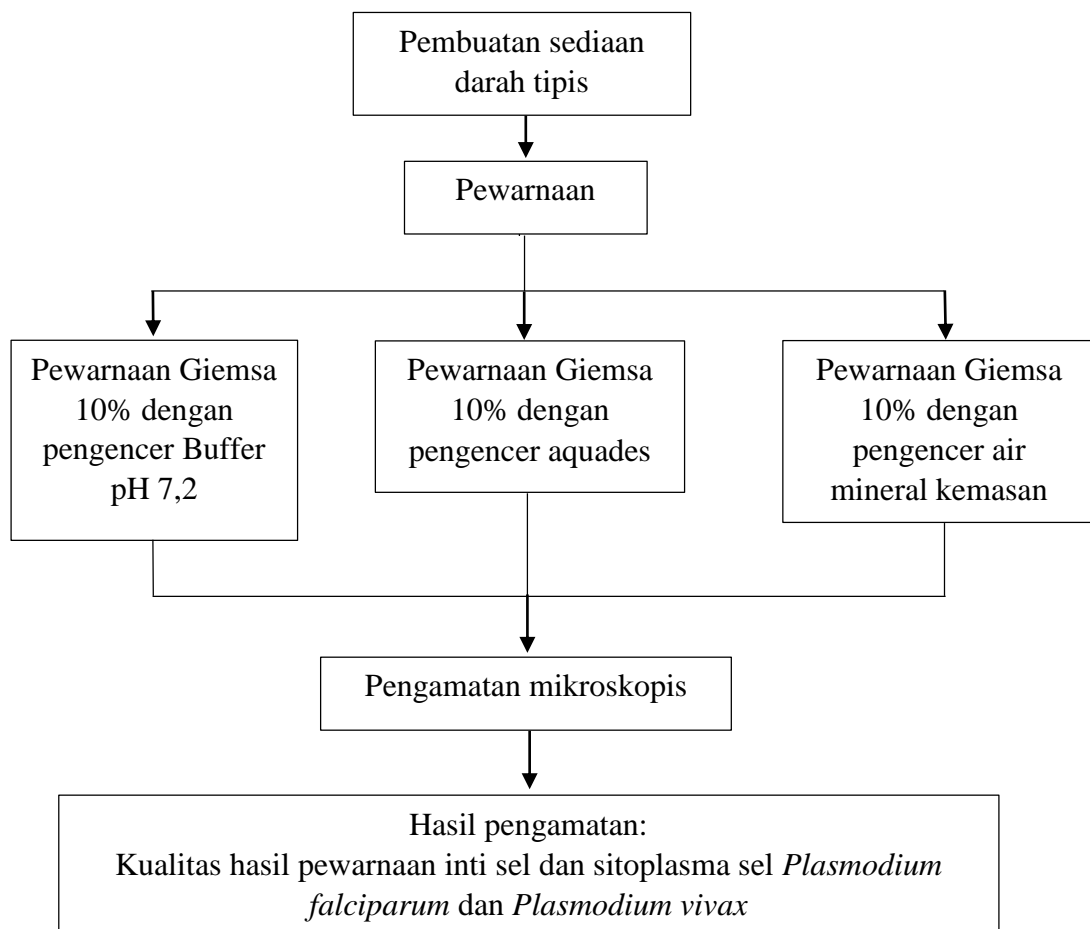
Kualitas sediaan dapat dilihat secara makroskopis dan mikroskopis. Adapun ciri dari kualitas sediaan darah tipis secara makroskopis sebagai berikut: (Zulkoni, A, 2010 dan Irianto, K, 2013)

- a. Sediaan tidak berlobang dan terputus.
- b. Sediaan tidak boleh bergerigi, khususnya pada bagian ekor sediaan. Karena sel eritrosit akan menyebar pada bagian ekor, sehingga akan mempermudah identifikasi bentuk parasit *Plasmodium sp.* serta morfologinya.
- c. Terdapat zona tebal dan tipis pada sediaan darah tipis. Pengamatan akan sulit apabila sediaan terlalu tebal sehingga sel eritrosit saling bertumpuk. Jika sediaan terlalu tipis, sel akan kehilangan bentuk bikonkafitasnya terutama pada bagian tepi.

Sedangkan ciri kualitas sediaan darah tipis secara mikroskopis sebagai berikut: (Zulkoni, A, 2010 dan Irianto, K, 2013)

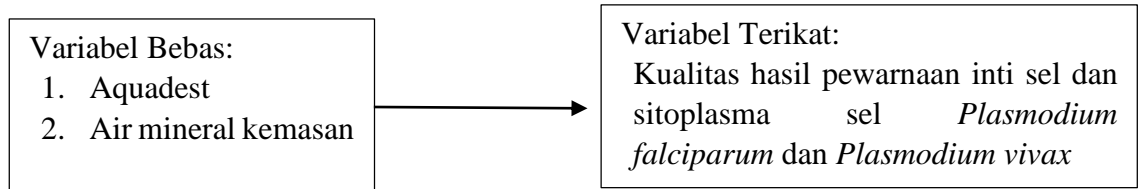
- a. Sel eritrosit pada sediaan darah tipis lebih tersebar dan tidak saling melekat satu sama lain.
- b. Sel eritrosit berwarna merah kontras dan jelas.
- c. Latar belakang jernih, biru pucat atau pucat kemerahan.
- d. Bersih dari pengotor dan endapan partikel Giemsa.
- e. Dapat membedakan antara sel eritrosit dan sel leukosit.
- f. Sel leukosit tidak mengelompok di ujung apusan serta tidak berongga atau pecah.

B. Kerangka Teori



Gambar 9. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka Konsep