

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Malaria**

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh organisme parasit protozoa dari genus *Plasmodium*. Penyakit ini menyebar melalui gigitan nyamuk yang terinfeksi. Ini ditandai dengan gejala berulang yang meliputi menggigil, demam, dan sakit dan nyeri di seluruh tubuh. *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium knowlesi* adalah lima spesies dari genus *Plasmodium* yang dapat menyebabkan penyakit malaria pada manusia (Aryani & Riyandry, 2019).

Nyamuk Anopheles betina adalah vektor utama yang bertanggung jawab atas penyebaran penyakit ini. Gigitan nyamuk ini pada orang yang sudah membawa parasit plasmodium menyebabkan nyamuk tersebut terinfeksi parasit plasmodium. Setelah diberi makan, nyamuk tidak akan terinfeksi lagi selama satu minggu penuh. Saat sedang makan, nyamuk ini akan menggigit orang lain, di mana ia akan menyuntikkan parasit plasmodium penyebab malaria ke dalam aliran darah orang tersebut. Gigitan ini akan menyebabkan orang kedua tertular malaria (Epyvani, 2021).

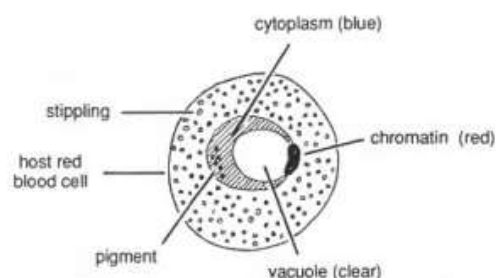
## 2. Morfologi

Komponen parasit penyebab malaria yaitu :

- a. Nukleus dan kromatin : berbentuk bulat dan berwarna merah
- b. Sitoplasma; dapat mengambil berbagai bentuk, mulai dari cincin hingga bentuk tidak beraturan, dan seringkali berwarna biru (Kementerian Kesehatan, 2017).

Kementerian Kesehatan RI 2020, mencantumkan komponen berikut sebagai komponen yang biasanya ditemukan pada parasit malaria:

- a. Kromatin, yang memiliki struktur yang melingkar dan berwarna merah, dan ditandai dengan warnanya yang merah.
- b. Sitoplasma, yang biasanya berwarna biru dan dapat berbentuk cincin atau pola asimetris.
- c. Vakuola adalah struktur bulat yang bisa berwarna putih atau bening dan bisa dilihat di sitoplasma. Mereka digunakan oleh parasit sebagai kantong atau tempat makan. Mereka adalah karakteristik yang membedakan dari tahap perkembangan trofozoit.

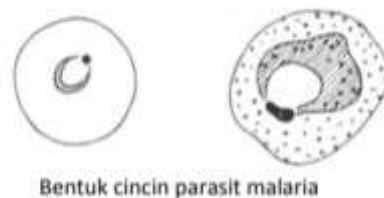


Gambar 1. Morfologi Parasit Malaria (Kementerian Kesehatan RI., 2020)

Tahap trofozoit, tahap skizon, dan tahap gametosit parasit malaria semuanya dapat dideteksi dalam sediaan darah.

a. Stadium Trofozoid

Tahap ini adalah yang paling sering terlihat dan umumnya dikenal sebagai tahap cincin. meskipun profil cincin itu biasanya tidak sepenuhnya sempurna.

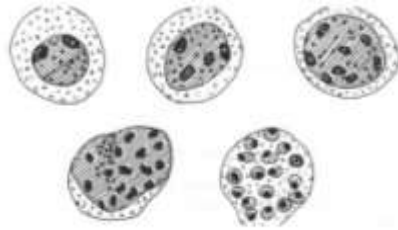


Gambar 2. Stadium Trofozoid  
(Kementerian Kesehatan RI., 2020)

Ukuran parasit dalam sel darah merah dapat berkisar dari sangat kecil hingga sangat besar karena tahap trofozoit merupakan tahap pertumbuhan. Pigmen yang terlihat akibat pertumbuhan dan metabolisme parasit dapat berwarna dari kuning muda hingga coklat tua kehitaman atau bahkan hitam.

b. Stadium Skizon

Selama tahap skizon, nukleus mengalami pembelahan aseksual menjadi 2, 4, 8, dan seterusnya. Proses ini tidak melibatkan perkembangan sel kelamin pria atau wanita.



Gambar 3. Stadium Skizon  
(Kementerian Kesehatan RI., 2020)

c. Stadium Gametosit

Merupakan tahapan seksual yang selanjutnya akan tumbuh menjadi sel kelamin jantan dan betina ketika memasuki tubuh nyamuk *Anopheles* betina dan mengalami perkembangan tambahan. Bergantung pada spesiesnya, gametosit dapat berbentuk bulat atau berbentuk pisang.



Gambar 4. Stadium Gametosit  
(Kementerian Kesehatan RI., 2020)

### 3. Sediaan Darah

a. Sediaan darah tipis

Ciri-ciri sediaan apusan darah yang tipis adalah memerlukan darah yang lebih sedikit untuk pemeriksaannya dibandingkan dengan sediaan apusan darah yang lebih tebal, morfologinya lebih jelas bentuk parasit plasmodium yang terdapat

di dalam eritrosit sehingga diperoleh bentuk parasit yang lengkap dengan morfologi yang sempurna, dan lebih mudah untuk menentukan spesies dan stadium parasit serta perubahan eritrosit yang terinfeksi. Ciri-ciri ini dapat disamakan dengan ciri-ciri darah yang lebih kental. Parasit mungkin terlihat sangat jelas.

b. Sediaan darah tebal

Ciri-ciri apusan darah tebal adalah membutuhkan lebih banyak darah secara signifikan untuk pemeriksaan daripada apusan darah tipis, yang menghasilkan lebih banyak parasit yang ditemukan dalam satu bidang visual. Akibatnya, lebih mudah untuk mengidentifikasi infeksi ringan dengan apusan darah yang tebal (Hada, 2018).

#### 4. Fiksasi

Fiksasi adalah teknik yang digunakan untuk mempertahankan morfologi sel dan parasit. Ketika film darah benar-benar kehilangan kelembapannya, sekarang saatnya untuk melanjutkan. Sebagai solusi fiksatif, metanol absolut sangat direkomendasikan (Ethiopian Public Health Institute, 2020). Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit di Amerika Serikat dan American Society for Microbiology merekomendasikan fiksasi metanol apusan darah tepi selama lima belas menit sebelum pewarnaan Giemsa (Relich *et al.*, 2020).

Dalam proses pewarnaan Giemsa, apusan darah secara tradisional difiksasi dengan metanol 100%. Fiksasi adalah sesuatu yang perlu

dilakukan sesegera mungkin setelah persiapan dibiarkan mengering karena jika tidak dilakukan, Anda akan berakhir dengan latar belakang biru. Fiksasi dengan methanol absolute selama lima menit efektif untuk membuka dinding sel eritrosit. Jika metanol terpapar ke atmosfer untuk waktu yang lama, ia akan menguap dan jenuh dengan air. Akibatnya, struktur eritrosit akan berubah. Fungsi fiksasi metanol mutlak untuk apusan darah agar mampu menyerap cat dengan baik, serta merekatkan apusan darah pada benda kaca sedemikian rupa sehingga apusan darah tidak mengelupas, dan mampu menghentikan proses metabolisme tanpa mempengaruhi kondisi (struktur) secara nyata (Warsita *et al.*, 2019).

## **5. Larutan Pengencer**

Untuk menodai parasit malaria dengan benar menggunakan metode Giemsa dan Field, diperlukan larutan buffer fosfat dengan pH 7,2 dan keseimbangan yang sesuai. Untuk menentukan tingkat pH, lembar pH kisaran sempit atau pH meter harus digunakan, dan larutan buffer harus disimpan pada suhu kamar. Buffer mempertahankan konsistensinya selama beberapa bulan. PH air yang telah disangga harus diukur untuk mengevaluasi kualitas air secara keseluruhan, dan kemudian solusi korektif harus diterapkan (Ethiopian, 2020). Untuk membuat larutan penyangga, cukup larutkan satu tablet penyangga dengan satu liter air mineral atau air suling yang jernih, tidak berbau, dan tidak berasa. Larutan buffer harus memiliki pH 7,2. (air botol).

Dimungkinkan untuk menggunakan larutan ini untuk mengencerkan larutan stok Giemsa (Benusu, 2019).

## **6. Giemsa**

Giemsa adalah pewarnaan yang paling umum digunakan untuk pewarnaan film darah dalam proses diagnostik malaria (World Health Organization & Regional Office for the Western Pacific, 2016). Pewarna Giemsa adalah campuran larutan biru metilen dan larutan eosin; Sediaan darah yang diwarnai dengan larutan ini akan tampak eritrosit berwarna merah muda, inti leukosit menjadi ungu tua, sitoplasma parasit malaria membiru, inti parasit menjadi merah, dan butir kromatin parasit menjadi merah karmin (Puasa, 2018).

Pewarnaan Giemsa didasarkan pada prinsip berikut: akan terbentuk endapan hitam setelah penambahan larutan biru metilen dan eosin yang telah dilarutkan dalam metanol. Pewarna Giemsa adalah jenis apusan yang terdiri dari eosin, metilen azur, dan metilen biru. Ini bermanfaat untuk mewarnai sel darah, dan pewarnaan ini dicapai dengan memperbaiki noda dengan metil alcohol (Syarifudin, 2018).

Bergantung pada metode tertentu yang diterapkan, pewarna Giemsa mungkin perlu diencerkan dengan air yang telah disangga hingga pH 7,2 sebelum dapat digunakan. Sebelum menggunakan pewarna, harus diperiksa terlebih dahulu untuk memastikan akan menghasilkan reaksi pewarnaan yang diinginkan. Stok stabil, tetapi karena respon pewarnaan, perlu dijaga tetap kering untuk menjaga

keutuhannya. Jika stok disiapkan atau disimpan dengan jumlah jejak air atau larutan lembab, noda Giemsa tidak akan berfungsi seperti yang direncanakan (Ethiopian Public Health Institute, 2020).

## 7. Kualitas Giemsa

Menurut Kemenkes RI 2020, pengujian kualitas menggunakan kertas Whatman No. 2 dan metil alkohol dengan cara :

- a. Tempatkan kertas saring di atas gelas atau petri disk supaya bagian tengah kertas tidak menyentuh sesuatu.
- b. Tempatkan 1 – 2 tetes Giemsa stok di atas kertas saring. Tunggu samapai meresap dan melebar.
- c. Kemudian teteskan 3 – 4 tetes metil alkohol absolut di pertengahan bulatan Giemsa satu persatu dengan jarak waktu beberapa detik sampai garis tengah Giemsa menjadi 5 – 7 cm. Kemudian akan terbentuk lingkaran biru (metilen biru) ditengah, lingkaran cincin ungu (metilen azur) diluarnya serta lingkaran tipis warna merah (eosin) di paling pinggir. Bila warna ungu atau merah tidak terbentuk, Giemsa sudah rusak dan tidak boleh dipakai lagi.

## 8. *May-Grunwald Giemsa*

*May-Grunwald Giemsa* (MGG) adalah salah satu noda yang termasuk dalam kelompok Romanowsky, yang pertama kali dilaporkan pada tahun 1900. Anggota lain dari kelompok ini termasuk Leishman, Giemsa, MGG, Wright dan Wright-Giemsa, dan noda DiffQuik.



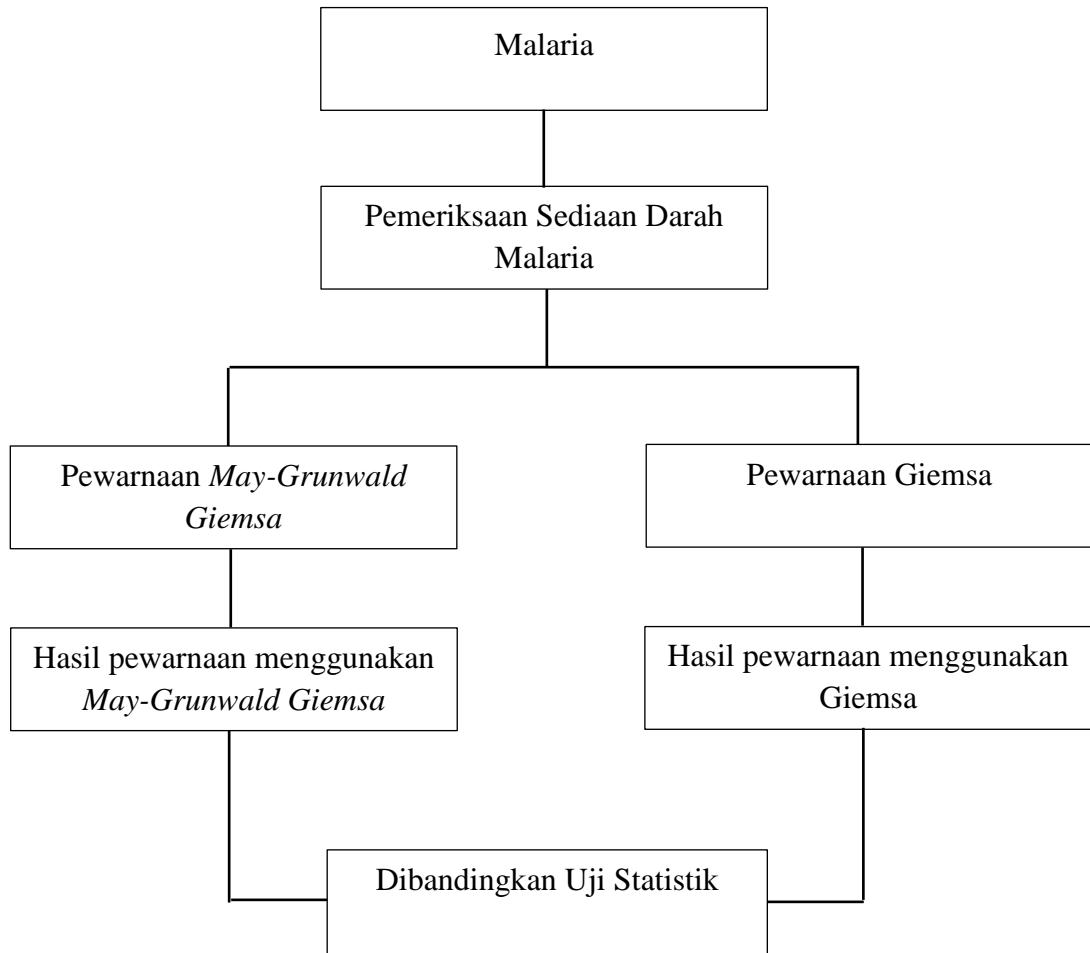
Kelompok kerja Komite Eropa untuk Program Penilaian Kualitas Eksternal di Laboratorium Kedokteran (EQALM) pada tahun 2004 menyarankan agar metode ini digunakan sebagai prosedur standar (Piaton *et al.*, 2016).

*May-Grunwald Giemsa* (MGG) adalah prosedur yang dianggap sebagai standar emas dalam hematologi; meskipun demikian, sekarang umumnya digunakan sebagai pewarnaan biasa dalam sitopatologi diagnostik untuk berbagai preparat yang dikeringkan dengan udara, termasuk cetakan kelenjar getah bening, cairan tubuh yang disentrifugasi, dan bahan aspirasi jarum. Bahkan terobosan terbaru dalam prosedur diagnostik, seperti perburuan sel tumor "sentinel" yang bersirkulasi menggunakan *Isolation by Size of Epithelial Tumor cells* (ISET), mengandalkan MGG sebagai alat diagnostik utama (Piaton *et al.*, 2016).

Giemsa yang merupakan salah satu reagen MGG memiliki kelemahan yaitu mudah kotor dan rusak. Oleh karena itu, reagen Giemsa perlu melalui proses pengendapan yang melibatkan penyaringan menggunakan kertas saring sebelum dapat digunakan. Ini memastikan bahwa itu akan menghasilkan hasil baik yang sama setiap kali diterapkan. Pengecatan ulang sesuai dengan eksekusi MGG secara signifikan lebih sulit, membutuhkan waktu lebih lama, biaya lebih banyak, dan umumnya tidak dilakukan di Indonesia (Ariyanti *et al.*, 2017).

## B. Kerangka Teori

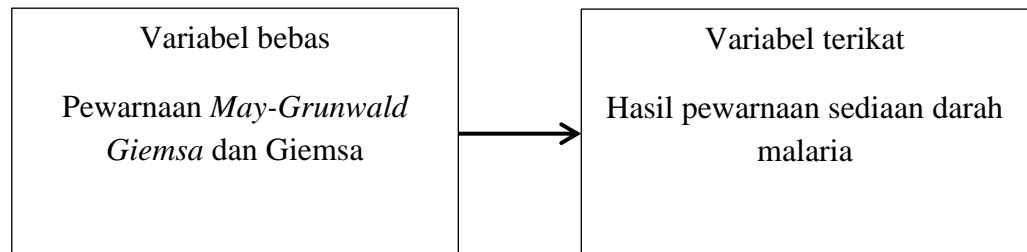
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kerangka Teori

### C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan oleh Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

Pewarna *May-Grunwald Giemsa* kurang efektif dibandingkan pewarna Giemsa pada pemeriksaan mikroskopik malaria.