

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Malaria

Kata malaria berasal dari bahasa Italia yang terdiri atas dua suku kata, mal dan aria, yang berarti udara buruk. Dahulu, masyarakat Italia meyakini bahwa penyakit ini disebabkan oleh pengaruh udara dan musim yang tidak baik. Penyakit malaria telah dikenal sejak lebih dari empat ribu tahun lalu dan diyakini berperan dalam memengaruhi sejarah serta populasi manusia (World Health Organization, 2021).

Malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* yang terinfeksi (Kemenkes RI, 2021). Nyamuk *Anopheles* betina berperan sebagai vektor utama dalam transmisi malaria. Proses penularan terjadi ketika nyamuk tersebut mengisap darah dari individu yang telah terinfeksi parasit *Plasmodium*, sehingga parasit masuk dan berkembang biak di dalam tubuh nyamuk. Setelah melalui masa inkubasi sekitar 7–10 hari, nyamuk tersebut menjadi infeksius dan mampu menularkan parasit kepada manusia lain melalui gigitan berikutnya (Epyvani, 2021).

menginfeksi sel darah merah pada saat skizon hati pecah. Di dalam eritrosit, parasit ini berkembang dari stadium trophozoit menjadi skizon yang mengandung 8–30 merozoit, tergantung pada spesiesnya. Gejala malaria muncul saat eritrosit pecah dan melepaskan parasit serta antigen. Antigen-antigen tersebut merangsang makrofag, monosit, dan limfosit untuk mengeluarkan sitokin, seperti *Tumor Necrosis Factor* (TNF) (CDC, 2015).

b. Siklus Pada Nyamuk *Anopheles* Betina

Nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah manusia yang mengandung gametosit, proses pembuahan antara gamet jantan dan gamet betina terjadi di dalam tubuh nyamuk. Hasil pembuahan tersebut membentuk zigot yang kemudian berkembang menjadi ookinet dan menembus dinding lambung nyamuk. Ookinet berubah menjadi ookista pada bagian luar dinding lambung dan menghasilkan sporozoit. Sporozoit ini bersifat infeksius dan siap ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk (Kementerian Kesehatan RI, 2021).

Gametosit yang tidak dimakan oleh nyamuk *Anopheles* betina menghentikan siklus seksual *Plasmodium* di nyamuk. Zigot tidak terbentuk karena pembuahan antara gamet jantan dan betina tidak terjadi, sehingga ookinet dan ookista tidak berkembang. Sporozoit infeksius tidak dihasilkan, sehingga penularan malaria ke manusia berikutnya tidak terjadi. Manusia masih mengalami siklus aseksual (ekso-eritrositer dan eritrositer) yang menimbulkan gejala, tetapi rantai

penularan ke individu lain terputus (Kementerian Kesehatan RI, 2021).

c. Masa inkubasi

Masa inkubasi malaria merupakan rentang waktu yang diperlukan sejak sporozoit masuk ke dalam tubuh manusia hingga munculnya gejala klinis seperti demam. Berdasarkan data yang dikemukakan oleh Putra, masa inkubasi penyakit malaria adalah sebagai berikut: *Plasmodium falciparum* selama 9–14 hari (rata-rata 12 hari), *Plasmodium vivax* selama 12–17 hari (rata-rata 15 hari), *Plasmodium ovale* selama 16–18 hari (rata-rata 17 hari), dan *Plasmodium malariae* selama 18–40 hari (rata-rata 28 hari) (Putra, 2021).

3. *Plasmodium*

Plasmodium merupakan parasit protozoa intraseluler obligat yang menjadi penyebab utama penyakit malaria pada manusia dan beberapa jenis hewan. Malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium* hingga kini masih menjadi tantangan kesehatan global, karena dapat menyebabkan angka kesakitan dan kematian yang tinggi, terutama pada anak-anak dan ibu hamil di daerah endemis (WHO, 2022).

Plasmodium termasuk dalam filum Apicomplexa, kelas Haemosporidia, dan genus *Plasmodium*. Lima spesies utama yang menginfeksi manusia ialah *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, dan *P. knowlesi* (WHO, 2021). Spesies *P. falciparum* paling berbahaya karena dapat menyebabkan malaria berat dan komplikasi fatal, sedangkan *P. vivax* sering menimbulkan malaria kambuhan akibat

hipnozoit dorman di hati (Kemenkes RI, 2021).

Perubahan morfologi *Plasmodium* di dalam eritrosit berlangsung melalui beberapa tahap, yaitu trophozoit, skizon, dan gametosit. Setiap tahap memiliki ciri morfologi khas yang dapat diamati menggunakan mikroskop dengan bantuan pewarnaan darah, salah satunya pewarnaan Giemsa (Raharjo, 2022).

3. Jenis dan stadium *plasmodium*

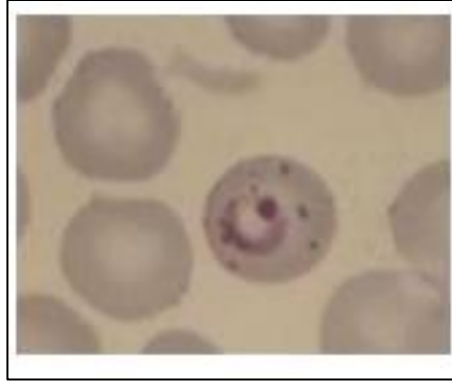
a. *Plasmodium falciparum*

Plasmodium falciparum merupakan spesies yang paling berbahaya, yang menyebabkan jenis malaria berat yang dikenal dengan sebutan malaria tertiana maligna. *Plasmodium falciparum* memiliki tiga bentuk utama dalam darah, yaitu trophozoit, skizon, dan gametosit, yang masing-masing menunjukkan karakteristik morfologi berbeda sesuai tahap perkembangannya (WHO, 2021)

1) Bentuk Trophozoit

Tahap trophozoit, parasit tampak berbentuk cincin tipis dengan inti kecil dan sitoplasma halus. Sering kali terlihat trophozoit dengan dua inti dalam satu eritrosit. Seiring dengan pertumbuhan, trophozoit dewasa menunjukkan bentuk yang oval dan tidak teratur, dengan pigmen berwarna hitam yang mengelompok di satu sisi sitoplasma. Bentuk ini umumnya ditemukan pada kasus infeksi malaria berat, di mana jumlah

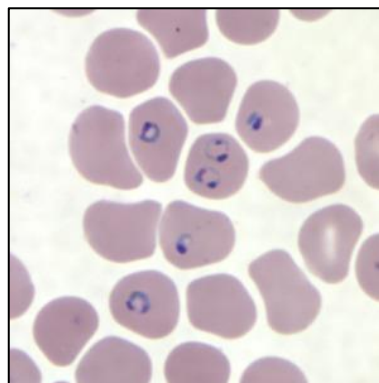
parasit dalam darah sangat tinggi (Arianda, 2023).



Gambar 2. *Tropozoit Plasmodium falciparum*
Sumber: Arianda, 2023.

2) Bentuk Skizon

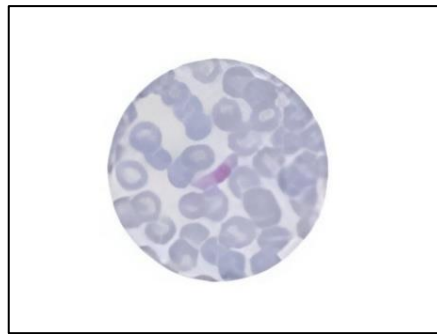
Tahap skizon pada *Plasmodium falciparum* relatif jarang ditemukan dalam sediaan darah tepi, karena sebagian besar proses perkembangan parasit berlangsung di organ hati dan limpa. Dalam skizon dewasa, terdapat sekitar 20 merozoit yang siap dilepaskan untuk menginfeksi sel darah merah baru (Arianda, 2023).



Gambar 3. Skizon *Plasmodium falciparum*
Sumber : Arianda, 2023.

3) Bentuk Gametosit

Tahap gametosit, parasit menunjukkan bentuk khas menyerupai pisang atau bulan sabit, yang menjadi ciri diagnostik utama *Plasmodium falciparum*. Pigmen tersebar merata hingga ke ujung gametosit, dan terkadang terlihat seperti adanya tonjolan merah di tepi sel inang. Bentuk gametosit sering ditemukan bersamaan dengan tropozoit dalam darah, menandakan bahwa infeksi sudah mencapai tahap lanjut dan siap ditularkan ke nyamuk vektor (Arianda, 2023).



Gambar 4. Gametosit *Plasmodium falciparum*
Sumber: Arianda, 2023.

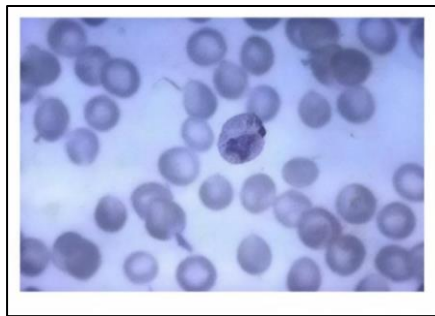
b. *Plasmodium vivax*

Plasmodium vivax merupakan salah satu spesies parasit penyebab malaria pada manusia yang dikenal menyebabkan jenis malaria tertiana dengan gejala demam yang berulang setiap 48 jam. Spesies ini memiliki kemampuan untuk bertahan dalam bentuk hipnozoit di hati, sehingga dapat menyebabkan kekambuhan infeksi setelah beberapa bulan bahkan tahun. *Plasmodium vivax* menunjukkan tiga bentuk utama dalam darah, yaitu tropozoit, skizon, dan gametosit,

dengan ciri-ciri khas yang membedakannya dari spesies *Plasmodium* lainnya (Arianda, 2023).

1) Bentuk Trophozoit

Tahap trophozoit, parasit tampak berbentuk cincin dengan ukuran yang lebih besar dibandingkan *Plasmodium falciparum*. Sitoplasma parasit tampak tidak teratur, sedangkan trophozoit dewasa memiliki bentuk sitoplasma menyerupai amoeba dengan inti yang besar. Pigmen parasit terlihat berwarna coklat kekuningan dan tersebar sebagian di dalam sitoplasma. Bila bentuk trophozoit bulat tanpa vakuola, pengamatannya dapat menyerupai bentuk gametosit, sehingga memerlukan ketelitian dalam identifikasi mikroskopis (Arianda, 2023).

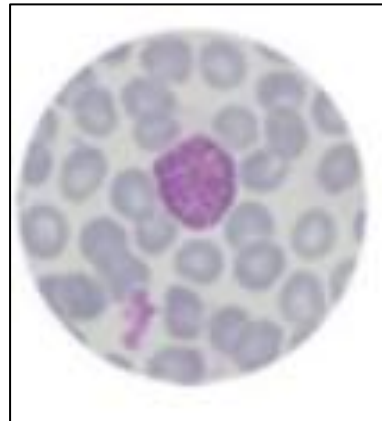


Gambar 5. *Trophozoit Plasmodium Vivax*
Sumber: Arianda, 2023.

2) Bentuk Skizon

Tahap skizon, parasit tampak tidak teratur dengan sitoplasma yang terpecah menjadi beberapa kelompok. Pigmen parasit berwarna coklat gelap, dan pada skizon dewasa ditemukan sekitar 16 merozoit yang berukuran lebih besar dibandingkan dengan

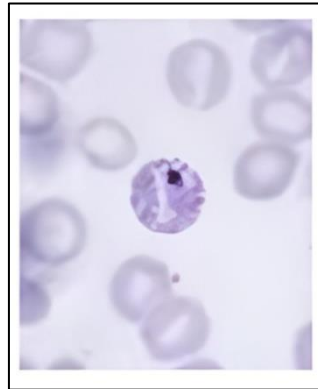
Plasmodium spesies lainnya. Ciri ini menjadi pembeda utama *P. vivax* dari *P. malariae* dan *P. ovale* dalam pemeriksaan sediaan darah (Arianda, 2023).



Gambar 6. Skizon *Plasmodium vivax*
Sumber: Arianda, 2023.

3) Bentuk Gametosit

Tahap gametosit pada *Plasmodium vivax* memiliki bentuk bulat dengan inti di bagian tengah sitoplasma. Di sekeliling inti, terdapat daerah yang tampak tidak berwarna atau jernih. Makrogametosit berukuran lebih besar daripada gametosit spesies lain, dan sering kali sulit dibedakan dari tropozoit dewasa karena bentuknya yang hampir serupa. Pigmen halus berwarna coklat tersebar di sitoplasma, sedangkan mikrogametosit memiliki inti besar berwarna merah muda dengan sitoplasma pucat dan pigmen kasar yang menonjol (Arianda, 2023).



Gambar 7. Gametosit *Plasmodium vivax*
Sumber: Arianda, 2023.

c. *Plasmodium malariae*

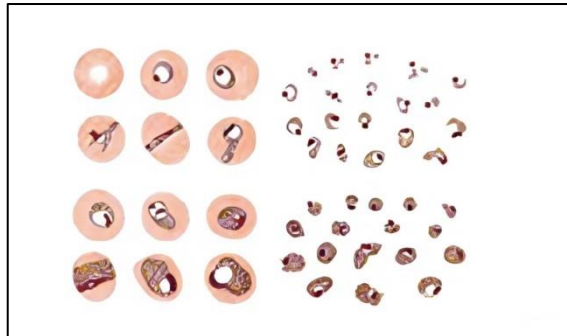
Plasmodium malariae merupakan salah satu spesies parasit penyebab malaria pada manusia yang umumnya menyebabkan jenis malaria kuartana, yaitu demam yang muncul setiap 72 jam sekali. Spesies ini dikenal memiliki tingkat patogenitas yang lebih rendah dibandingkan *Plasmodium falciparum*, namun dapat menyebabkan infeksi kronis yang berlangsung lama apabila tidak segera diobati (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).

Plasmodium malariae memiliki tiga bentuk utama, yaitu tropozoit, skizon, dan gametosit, dengan ciri khas yang membedakannya dari spesies *Plasmodium* lainnya.

1) Bentuk Tropozoit

Tahap tropozoit, parasit tampak berbentuk cincin dengan sitoplasma tebal dan inti yang besar. Tropozoit dewasa menunjukkan bentuk cincin yang lebih besar dengan pigmen kasar berwarna gelap. Ciri morfologi ini menjadikan tropozoit

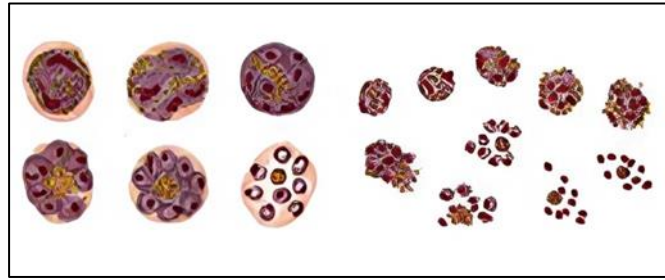
Plasmodium malariae sulit dibedakan dari bentuk gametosit *Plasmodium falciparum*, sehingga pemeriksaan mikroskopis yang teliti diperlukan untuk memastikan identifikasinya (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).



Gambar 8. *Tropozoit Plasmodium malariae*
Sumber: Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022.

2) Bentuk Skizon

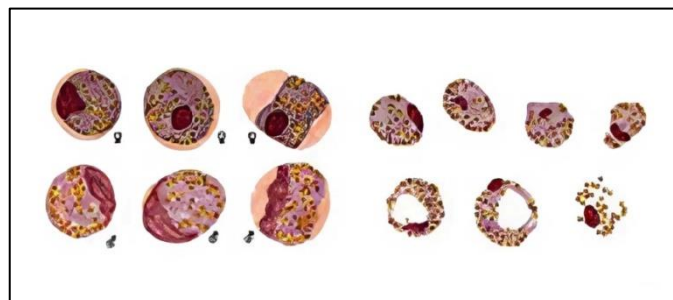
Skizon *Plasmodium malariae* memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan *Plasmodium vivax*. Bentuknya seringkali menyerupai bunga mawar (*rosette*) karena susunan merozoit yang melingkar di sekitar pigmen pusat. Dalam skizon dewasa, umumnya terdapat sekitar delapan merozoit, dan pada beberapa preparat hanya inti serta pigmen yang tampak jelas. Ciri khas ini merupakan indikator penting dalam membedakan *P. malariae* dari spesies lainnya (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).



Gambar 9. *Skizon Plasmodium malariae*
Sumber: Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022.

3) Bentuk Gametosit

Tahap gametosit pada *Plasmodium malariae* menunjukkan pigmen padat berwarna gelap dan menggumpal di dalam sitoplasma. Bentuk gametosit menyerupai tropozoit yang berkelompok (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).



Gambar 10. *Gametosit Plasmodium malariae*
Sumber: Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022.

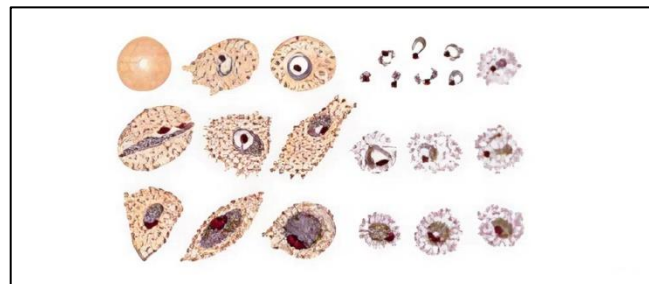
d. *Plasmodium ovale*

Plasmodium ovale merupakan spesies parasit penyebab malaria yang jarang ditemukan pada manusia. Saat menginfeksi, sel darah merah yang terinfeksi oleh *P. ovale* mengalami sedikit pembesaran, berbentuk lonjong dan memiliki tepi bergerigi pada salah satu ujungnya (Tarmizi, 2023). *Plasmodium ovale* sering menyerupai *Plasmodium malariae* pada tahap

tropozoit dan skizon yang sedang tumbuh, sehingga dibutuhkan ketelitian dalam pengamatan mikroskopis untuk membedakannya (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).

1) Tahap Tropozoit

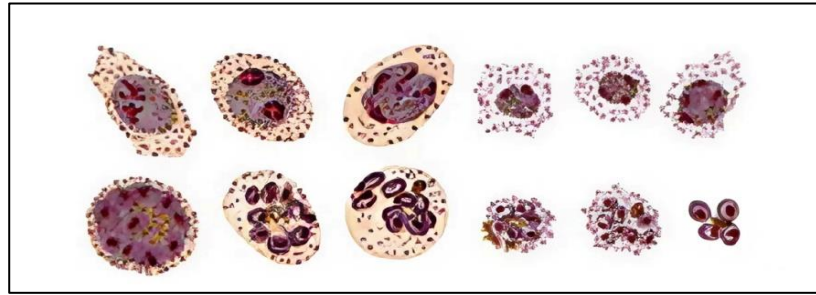
Tahap tropozoit, *Plasmodium ovale* memiliki bentuk cincin yang tidak beraturan. Sitoplasma tampak padat dan berwarna biru muda, dengan inti berwarna merah keunguan. Sel darah merah yang terinfeksi tampak sedikit membesar, berbentuk oval, dan memiliki tepi bergerigi. Pigmen yang muncul biasanya berwarna kekuningan hingga coklat muda dan tersebar di sitoplasma (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).



Gambar 11. *Tropozoit Plasmodium ovale*
Sumber: Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022.

2) Tahap Skizon

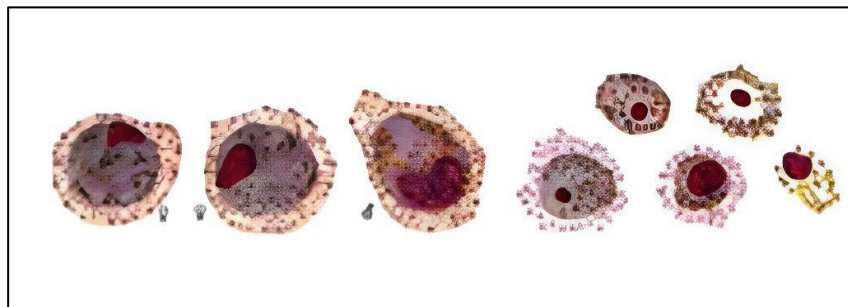
Tahap skizon, *P. ovale* memiliki bentuk tidak beraturan. Pigmen tampak kasar dan berwarna coklat tua. Jumlah merozoit pada skizon dewasa biasanya berkisar antara 8 hingga 12 butir (Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan, 2022).



Gambar 12. Skizon *Plasmodium ovale*
Sumber: Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan,
2022.

3) Tahap Gametosit

Tahap gametosit, *Plasmodium ovale* memperlihatkan bentuk oval dengan pigmen halus yang tersebar di seluruh sitoplasma. Inti berukuran besar dan berada di bagian tengah, sedangkan sitoplasma berwarna biru muda hingga ungu

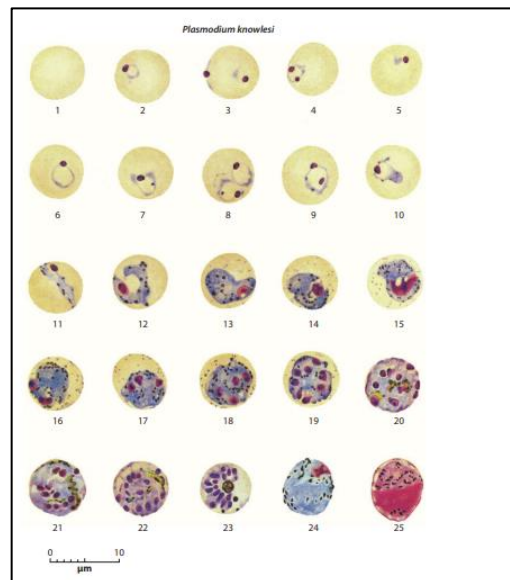


Gambar 13. Gametosit *Plasmodium ovale*
Sumber: Pengendalian Penyakit Direktorat Jenderal Pencegahan,
2022.

e. *Plasmodium knowlesi*

Parasit ini merupakan jenis baru yang ditemukan di wilayah Asia Tenggara. Penularannya terjadi melalui hewan perantara seperti monyet berekor panjang, monyet berekor coil, serta babi yang terinfeksi. Siklus hidup parasit ini berlangsung sangat cepat karena mampu bereplikasi setiap 24 jam dan dapat menimbulkan kondisi

yang parah. Jenis infeksi campuran yang paling sering ditemukan adalah kombinasi *Plasmodium falciparum* dengan *Plasmodium vivax* atau *Plasmodium malariae* (Sucipto, 2021).



Gambar 14. *Plasmodium knowlesi*
Sumber: Mahittikorn, 2021.

4. Sediaan Darah

a. Sediaan Darah Tipis

Sediaan darah tipis dibuat dengan sedikit darah dan memungkinkan pengamatan morfologi *Plasmodium* secara jelas. Jenis sediaan ini memudahkan identifikasi spesies dan stadium parasit serta memperlihatkan perubahan bentuk eritrosit yang terinfeksi (WHO, 2021).

Leukosit dapat diamati dengan baik pada sediaan darah tipis karena morfologinya tetap terjaga. Pengamatan ini memungkinkan identifikasi jenis sel seperti neutrofil, limfosit, dan monosit, serta membantu menilai respons imun terhadap infeksi malaria. Dengan

demikian, keberadaan leukosit memberikan informasi tambahan tentang kondisi fisiologis penderita (Hada, 2024).

b. Sediaan Darah Tebal

Sediaan darah tebal menggunakan volume darah lebih banyak untuk meningkatkan peluang menemukan parasit, terutama pada infeksi dengan parasitemia rendah. Jenis sediaan ini mempermudah deteksi infeksi ringan, meskipun morfologi parasit tidak sejelas pada sediaan tipis, sehingga lebih sering digunakan sebagai pemeriksaan skrining malaria (WHO, 2021).

Leukosit dapat terlihat pada sediaan darah tebal, meski strukturnya kurang jelas karena pelisisan eritrosit. Namun, keberadaannya penting untuk menghitung kepadatan parasit dengan membandingkan jumlah parasit terhadap leukosit tertentu, sehingga tetap berperan dalam penentuan tingkat infeksi malaria (Hada, 2024).

5. Pewarnaan Giemsa

Pewarnaan Giemsa merupakan metode efektif untuk identifikasi *Plasmodium* pada sediaan darah tebal maupun tipis. Pewarnaan ini menggunakan campuran zat warna eosin dan metilen biru yang memberikan kontras warna sehingga inti parasit tampak merah, sedangkan sitoplasma berwarna biru-ungu. Pewarnaan Giemsa 3% yang diencerkan dengan buffer fosfat pH 7,2 sering digunakan karena hasil pengamatan parasit yang jelas (Yuliani, 2022).

Proses pewarnaan dilakukan dengan merendam sediaan darah

dalam larutan Giemsa 3% selama 45 hingga 60 menit, kemudian dibilas perlahan menggunakan air buffer dan dikeringkan di udara. Pewarnaan pada konsentrasi ini menghasilkan tampilan parasit dengan warna ungu kebiruan yang kontras terhadap latar belakang darah yang berwarna merah muda. Kontras warna ini sangat membantu dalam membedakan struktur parasit, seperti inti dan sitoplasma, serta mempermudah identifikasi jenis dan stadium *Plasmodium* (Sari, 2021).

Pewarnaan Giemsa 3% unggul karena menghasilkan visualisasi tajam, warna stabil, dan mampu mendeteksi parasitemia rendah. Metode ini mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus, serta menghasilkan preparat yang tahan lama (WHO, 2021).

5. Fiksasi

Fiksasi merupakan tahapan penting dalam pembuatan preparat mikroskopis yang berfungsi mempertahankan morfologi sel dan parasit agar tetap stabil serta tidak mengalami perubahan bentuk setelah proses pengeringan. Teknik ini dilakukan segera setelah apusan darah kering sempurna, untuk mencegah terjadinya artefak atau perubahan warna latar belakang saat pewarnaan dilakukan (Garcia, 2020).

Metanol absolut digunakan sebagai larutan fiksatif utama, karena memiliki kemampuan melarutkan lemak dan menstabilkan struktur protein sel tanpa merusak komponen morfologis. Pusat Pengendalian

dan Pencegahan Penyakit Amerika Serikat (CDC) serta *American Society for Microbiology* (ASM), fiksasi sebaiknya dilakukan dengan metanol selama 30 detik sebelum pewarnaan Giemsa untuk memastikan pewarnaan inti dan sitoplasma parasit lebih optimal (Relich, 2021).

6. Buffer Fosfat

Buffer fosfat merupakan larutan penyangga yang berfungsi menjaga kestabilan pH dalam suatu reaksi kimia, termasuk pada proses pewarnaan Giemsa. Larutan ini dibuat dari campuran natrium fosfat monobasa (NaH_2PO_4) dan natrium fosfat dibasa (Na_2HPO_4) dalam perbandingan tertentu untuk mendapatkan pH sekitar 7,2 (Riyanto, 2021).

Buffer fosfat dalam pewarnaan Giemsa berperan penting karena kestabilan pH menentukan hasil pewarnaan yang optimal. pH yang terlalu rendah menyebabkan warna pewarnaan menjadi terlalu merah, sedangkan pH yang terlalu tinggi membuat pewarnaan menjadi kebiruan. Dengan demikian, buffer fosfat memberikan hasil pewarnaan yang lebih stabil dan konsisten dibandingkan dengan aquadest biasa (Sari, 2021).

7. Pelarut Aquadest

Aquadest atau air destilasi merupakan air murni yang diperoleh melalui proses penyulingan sehingga bebas dari mineral, ion logam, dan zat terlarut lainnya. Dalam laboratorium, aquades sering

digunakan untuk melarutkan bahan kimia dan pembuatan larutan pewarna karena tidak mengandung senyawa yang dapat mengganggu reaksi pewarnaan (Marjuni, 2022).

Air hasil destilasi yang baik memiliki pH sekitar 6,3 dengan kadar TDS (*Total Dissolved Solid*) 2 mg/L dan DHL (Daya Hantar Listrik) 0 mS/cm. Dengan karakteristik tersebut, aquades dapat digunakan sebagai pelarut Giemsa karena mampu melarutkan zat warna dengan baik tanpa mengubah pH larutan secara signifikan (Khotimah, 2021)

Kelemahan penggunaan aquadest adalah tidak memiliki kemampuan menahan perubahan pH, sehingga jika kondisi lingkungan asam atau basa, hasil pewarnaan dapat berubah menjadi terlalu pucat atau terlalu gelap. Hal ini dapat memengaruhi penampakan morfologi *Plasmodium* di bawah mikroskop (Wulandari, 2024).

8. Perbandingan Pelarut Aquades dan Buffer Fosfat dalam Pewarnaan Giemsa

Penelitian menunjukkan bahwa pelarut buffer fosfat cenderung menghasilkan pewarnaan yang lebih tajam dan kontras dibandingkan aquades, karena pH larutan yang stabil menjaga ikatan zat warna terhadap komponen sel. Sebaliknya, pelarut aquades memberikan hasil pewarnaan yang lebih bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan laboratorium. Pelarut aquades dan buffer fosfat dalam pewarnaan Giemsa 3% menjadi penting untuk mengetahui efektivitas

dan kualitas hasil pewarnaan, terutama dalam menghitung jumlah *Plasmodium* pada preparat darah (Wulandari, 2024).

9. Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium berperan penting dalam menegakkan diagnosis malaria dengan memastikan adanya parasit *Plasmodium* dalam darah. Selain itu, pemeriksaan ini membantu menilai keparahan infeksi, efektivitas terapi, dan kegiatan surveilans. Metode yang digunakan meliputi mikroskopis, *Rapid Diagnostic Test* (RDT), dan PCR, namun pemeriksaan mikroskopis tetap menjadi *gold standard* karena memiliki akurasi tinggi dalam mendeteksi dan mengidentifikasi spesies *Plasmodium* (Kemenkes RI, 2021).

a. Mikroskopis

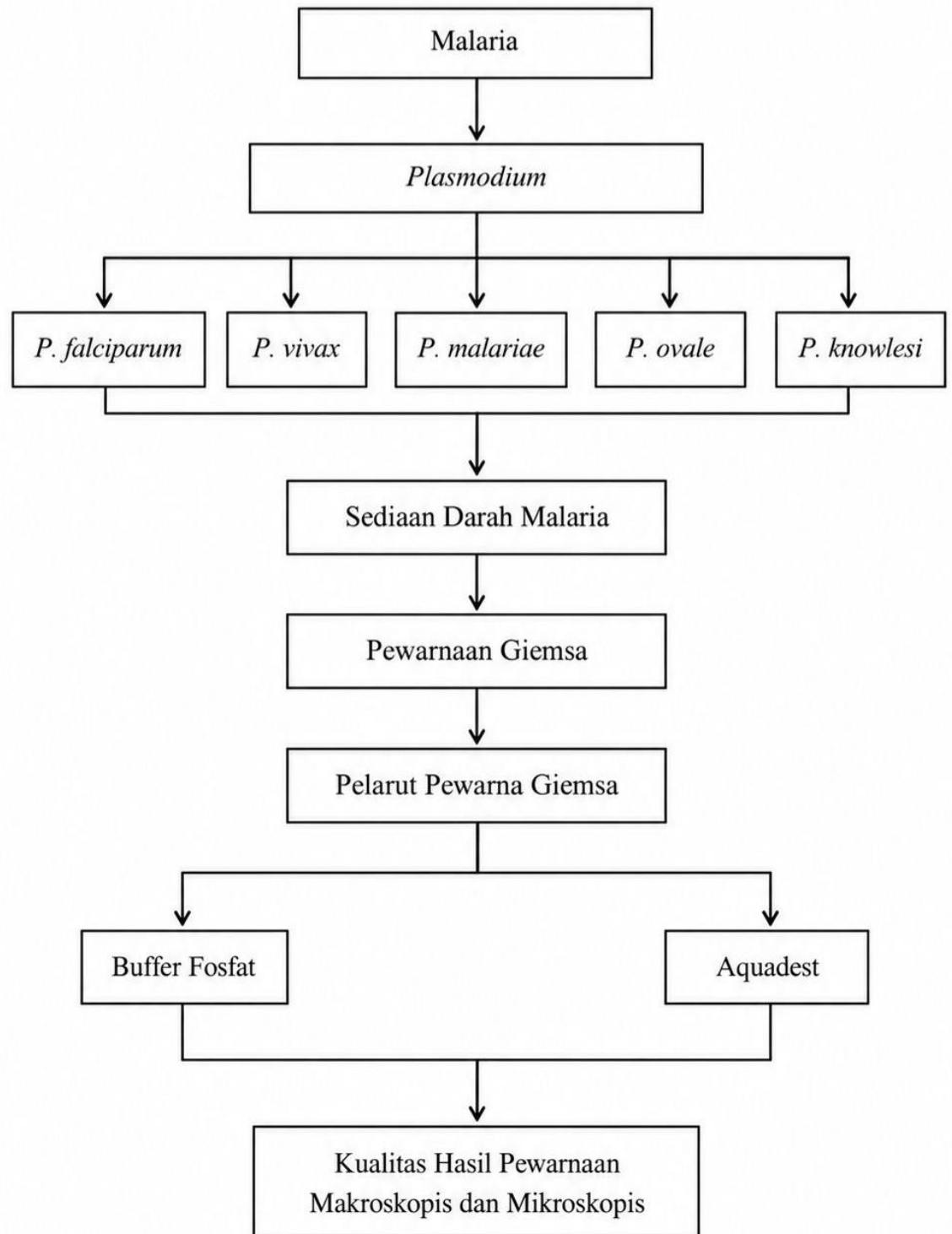
Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan sediaan darah tebal dan tipis yang diwarnai lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x menggunakan minyak imersi. Sediaan darah tebal digunakan untuk mendeteksi dan menghitung jumlah parasit, sedangkan sediaan tipis membantu mengamati morfologi parasit secara jelas guna menentukan spesies *Plasmodium*. Metode ini bersifat kualitatif dan kuantitatif, sehingga dapat menilai keberadaan serta tingkat parasitemia (Kemenkes RI, 2021).

b. *Rapid Diagnostic Test* (RDT)

Pemeriksaan *Rapid Diagnostic Test* (RDT) mendeteksi antigen spesifik *Plasmodium* dalam darah menggunakan prinsip imunokromatografi. Metode ini cepat dan praktis, cocok untuk daerah dengan fasilitas laboratorium terbatas (Kemenkes RI, 2021).

c. Pemeriksaan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

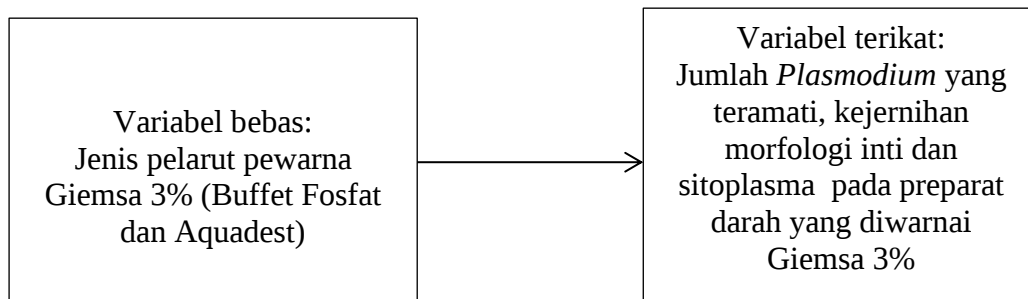
Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan pemeriksaan molekuler dengan sensitivitas tinggi untuk mendeteksi DNA *Plasmodium* secara spesifik. PCR mampu mengidentifikasi parasitemia rendah. Namun, karena memerlukan peralatan dan tenaga ahli, metode ini umumnya digunakan di laboratorium rujukan atau penelitian (Kemenkes RI, 2021).

B. Kerangka Teori

Gambar 15. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel pada penelitian ini ditunjukkan pada gambar 16.



Gambar 16. Hubungan antar variabel Penelitian

D. Hipotesis Penelitian

Jumlah *Plasmodium* yang teramati pada preparat darah yang diwarnai dengan Giemsa 3% menggunakan pelarut buffer fosfat lebih banyak dibandingkan dengan jumlah *Plasmodium* yang teramati pada preparat yang diwarnai dengan Giemsa 3% menggunakan pelarut aquadest. Buffer fosfat menjaga pH tetap stabil pada kondisi optimal (pH 7,2), sehingga menghasilkan pewarnaan yang konsisten, kontras lebih jelas, dan morfologi *Plasmodium* tampak lebih tegas, sehingga parasit lebih mudah dikenali dan dihitung. Sebaliknya, aquadest tidak dapat mempertahankan pH, menyebabkan pewarnaan kurang stabil dan detail *Plasmodium* kurang jelas, sehingga sebagian parasit dapat terlewat saat pengamatan (WHO, 2021).