

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Malaria

a. Pengertian

Malaria telah dikenal selama ribuan tahun dan masih menjadi ancaman kesehatan global hingga saat ini. Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme yang disebut *Plasmodium*. *Plasmodium* menginfeksi manusia melalui vektor penular nyamuk *Anopheles* betina (Haryanto dkk., 2023). Penyakit ini dapat menular, menurunkan produktivitas, menyebabkan kerugian ekonomi dan meningkatkan kematian bayi dan ibu hamil, anak serta orang dewasa (Avichena dan Anggriyani R, 2023). Ada lima spesies *Plasmodium* yang telah diidentifikasi sebagai penyebab malaria pada manusia yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium knowlesi* (Setyaningrum, 2020).

b. Epidemiologi Malaria

Malaria terutama terjadi di daerah tropis dan beberapa daerah subtropis (Utami dkk., 2022). Sebagian besar kasus malaria terjadi di Afrika, kawasan Oseania (Papua Nugini), serta di Amerika Tengah dan Selatan dan juga Asia Tenggara (WHO, 2023). Di Indonesia, jenis *Plasmodium* yang paling sering ditemukan dan menjadi penyebab utama malaria adalah *Plasmodium falciparum* (Kemenkes RI, 2024).

Malaria endemik di beberapa daerah Indonesia, dengan tingkat infeksi tinggi di Papua dan Nusa Tenggara Timur. Kabupaten/kota dengan status endemis tinggi di Provinsi Papua yaitu Papua Selatan, Papua Tengah, Papua Pegunungan, Papua Barat Daya dan Papua Barat. Provinsi Nusa Tenggara Timur memiliki satu kabupaten/kota endemis tinggi yaitu Kabupaten Sumba Barat (Kemenkes RI, 2025).

c. Prevalensi Malaria

Data dari *World Health Organization* (WHO) tahun 2022, mencatat sekitar 249 juta kasus malaria di seluruh dunia dengan angka kematian 608.000 jiwa. Afrika masih menjadi daerah dengan beban kasus dan kematian akibat malaria tertinggi (WHO, 2023). Pada tahun 2023, jumlah kasus meningkat menjadi 263 juta, sementara angka kematian mencapai 597.000 jiwa. Negara-negara seperti Nigeria, Republik Demokratik Kongo, Niger dan Tanzania tetap menjadi pusat penyebaran utama, dengan Nigeria sebagai penyumbang hampir sepertiga dari total kematian global (WHO, 2023).

Pemeriksaan suspek malaria di Indonesia pada tahun 2023 mencapai 3.468.250 dengan jumlah kasus positif 418.546. Pada tahun 2024 terjadi peningkatan menjadi 4.353.097 dengan kasus positif sebesar 543.965 (Kemenkes RI, 2025). Sebanyak 47,9% kasus malaria disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* dan 38,3% oleh *Plasmodium vivax*. Data rutin surveilans malaria tahun 2023, mencatat 120 kasus kematian akibat malaria (Kemenkes RI, 2024).

Daerah Istimewa Yogyakarta, tepatnya Kabupaten Kulon Progo masih menjadi wilayah yang berkontribusi terhadap penyebaran penyakit malaria. Jumlah kasus positif malaria di Kabupaten Kulon Progo tercatat sebanyak 18 kasus pada tahun 2021, meningkat menjadi 97 kasus pada tahun 2022 dan menurun menjadi 10 kasus pada tahun 2023 (Elia dkk, 2024 dan UPT Puskesmas Kokap II, 2024).

2. Parasit *Plasmodium*

a. Definisi

Plasmodium merupakan parasit bersel satu dan termasuk dalam kelompok protozoa, yang apabila masuk ke dalam tubuh nantinya akan hidup serta berkembangbiak dalam sel darah manusia, dan menyebabkan penyakit malaria. Parasit ini akan menyerang dan menghancurkan sel darah merah dalam jumlah besar, mengakibatkan kekurangan sel darah merah atau anemia karena banyaknya sel darah merah yang hancur (Manihuruk, 2022).

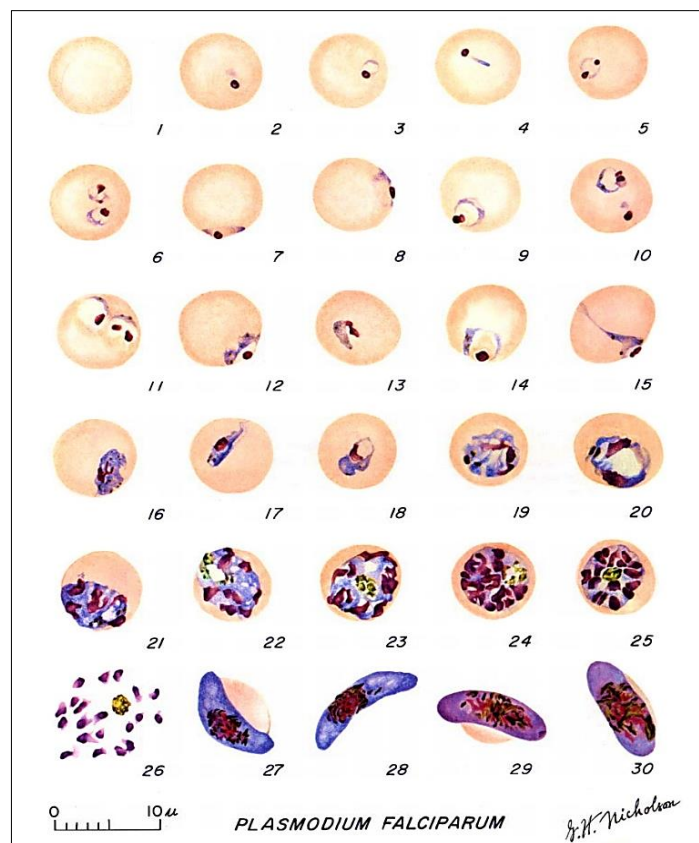
b. Morfologi dan Stadium Parasit

1) *Plasmodium falciparum*

Infeksi *Plasmodium falciparum* yang ditemukan pada sediaan darah adalah fase trophozoit muda (cincin) dan gametosit, tetapi pada infeksi berat dapat juga ditemukan fase trophozoit dewasa dan skizon. Eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* tidak bertambah besar dan sering ditemukan lebih dari satu parasit dalam satu eritrosit. Stadium trophozoit muda

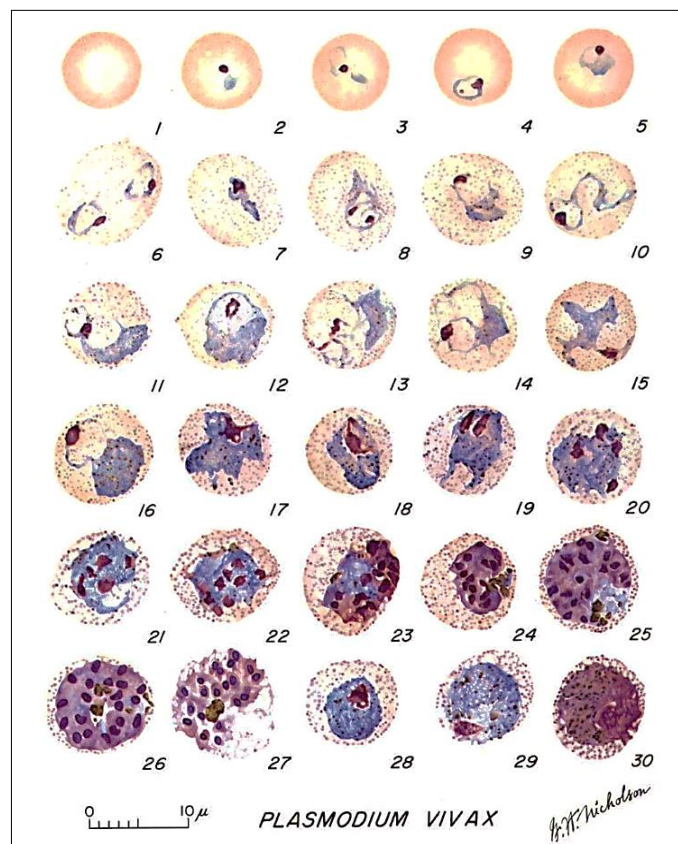
berbentuk cincin dan koma, terkadang ditemukan berinti lebih dari satu atau *double dots* (Kemenkes RI, 2017).

Stadium skizon berbentuk bulat, tidak mengisi seluruh eritrosit, terdiri atas 12-30 merozoit yang berkelompok dengan pigmen menggumpal. Stadium gametosit makrogametosit berbentuk seperti bulan sabit dengan ujung lancip dan pigmen berwarna gelap berkumpul di tengah, sedangkan mikrogametosit berbentuk seperti pisang dengan inti tunggal dan pigmen tersebar kasar (Tim Fakultas Kedokteran Undip, 2021).



Gambar 1. Morfologi *Plasmodium falciparum*.
Sumber: Despommier dkk., 2017.

2) *Plasmodium vivax*



Gambar 2. Morfologi *Plasmodium vivax*.
Sumber: Despommier dkk., 2017.

Stadium trophozoit muda seperti cincin dengan titik kromatin di satu sisi. Stadium trophozoit dewasa tampak kompak dengan sitoplasma padat dan pigmen halus tersebar. Eritrosit yang terinfeksi akan membesar. *Plasmodium vivax* cenderung menginfeksi eritrosit muda atau retikulosit. Setelah 36 jam terinfeksi, trophozoit akan memenuhi lebih dari setengah eritrosit yang membesar, lalu intinya membelah menjadi skizon. Setelah 48 jam, skizon mencapai ukuran dan segmentasi maksimal.

Stadium skizon terdiri dari 12–24 merozoit yang tersebar tidak merata dan pigmen tidak menggumpal (Kemenkes RI, 2017).

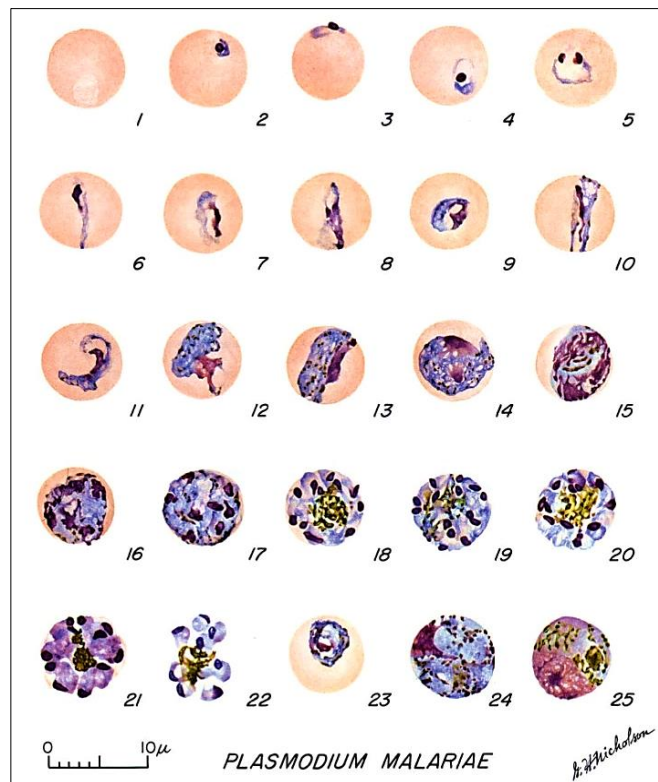
Stadium gametosit makrogametosit memiliki inti lebih padat berwarna merah dan terletak di pinggir *Plasmodium* dengan sitoplasma berwarna biru tua. Sedangkan mikrogametosit memiliki inti besar berwarna merah muda pucat dan sitoplasma berwarna biru pucat. Pada pewarnaan sediaan yang kuat, akan terlihat titik-titik halus berwarna merah muda atau kemerahan di dalam sitoplasma eritrosit. Terdapat butir-butir yang ditemukan di semua fase perkembangan *Plasmodium vivax* yang disebut titik Schüffner (Tim Fakultas Kedokteran Undip, 2021).

3) *Plasmodium malariae*

Plasmodium malariae berukuran kecil dan jumlahnya lebih sedikit dibandingkan *Plasmodium vivax*, namun bentuk cincin stadium trophozoit muda mirip. Sitoplasma berwarna biru, lebih padat dan lebih homogen dibandingkan *Plasmodium vivax*. Trophozoitnya memiliki butir-butir pigmen kasar yang berwarna hitam. *Plasmodium malariae* di dalam eritrosit terkadang membentuk gambaran seperti pita (*band form*) dengan kromatin seperti benang dan bervakuola (Kemenkes RI, 2017).

Skizon menjadi matang dan mengisi seluruh eritrosit normal, setelah 71 jam masa infeksi. Stadium skizon terdiri atas 6–12 merozoit yang tersebar dengan pigmen padat berkumpul di

tengah. Stadium gametosit terdiri dari makrogametosit berbentuk bulat dengan inti di pinggir serta pigmen halus tersebar, dan mikrogametosit dengan inti tunggal di tengah serta pigmen kasar tersebar (Tim Fakultas Kedokteran Undip, 2021).



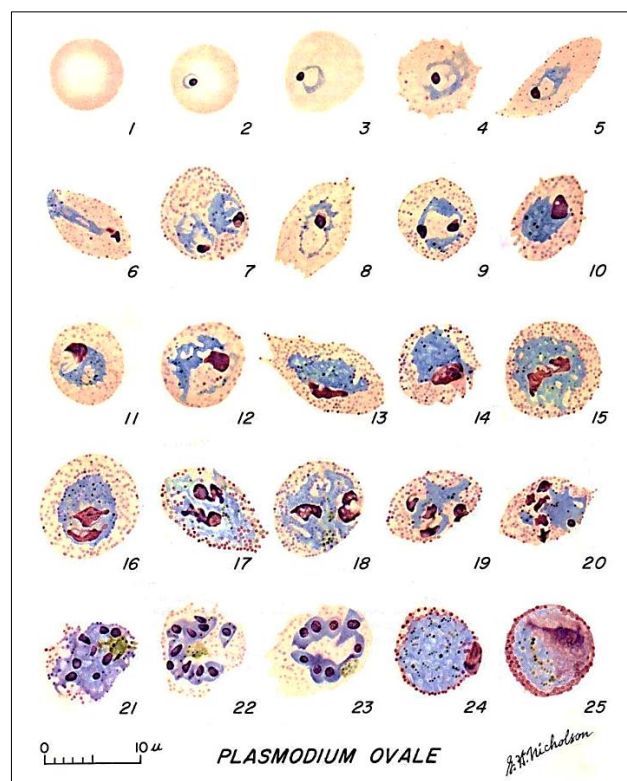
Gambar 3. Morfologi *Plasmodium malariae*.
Sumber: Despommier dkk., 2017.

4) *Plasmodium ovale*

Infeksi *Plasmodium ovale* dapat menyebabkan eritrosit membengkak, agak pucat, berbentuk lonjong dan mempunyai titik Schüffner yang kasar, mulai tampak sejak stadium cincin matang. Ciri khas *Plasmodium ovale* adalah bentuk eritrosit lonjong dengan gerigi (*fimbriated*) di salah satu sisinya. Bentuk

stadium trophozoit dan skizon mirip *Plasmodium malariae*, namun tidak membentuk *band form* (Kemenkes RI, 2017).

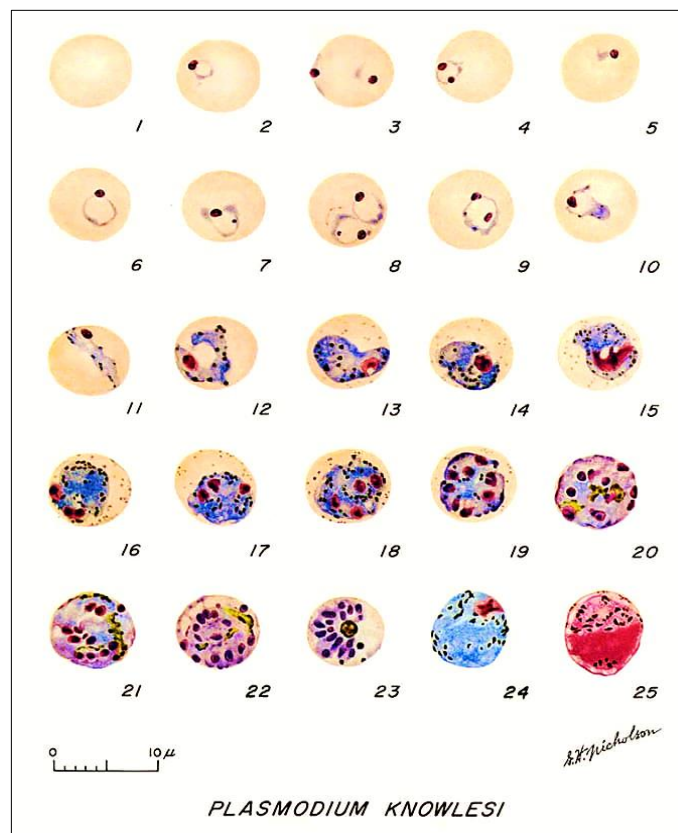
Stadium trophozoit muda berukuran kecil dengan bentuk cincin. Stadium trophozoit lanjut memiliki sitoplasma yang menebal, berbentuk cincin hingga *amuboid*, dengan inti menonjol dan pigmen kasar tersebar. Stadium skizon terdiri atas 4–12 merozoit yang tersebar tidak berkelompok. Stadium gametosit hampir mengisi seluruh eritrosit, terdiri dari makrogametosit berbentuk bulat dengan inti kompak di pinggir, serta mikrogametosit dengan inti tunggal jelas di tengah dan pigmen gelap tersebar kasar (Tim Fakultas Kedokteran Undip, 2021).



Gambar 4. Morfologi *Plasmodium ovale*.

Sumber: Despommier dkk., 2017.

5) *Plasmodium knowlesi*

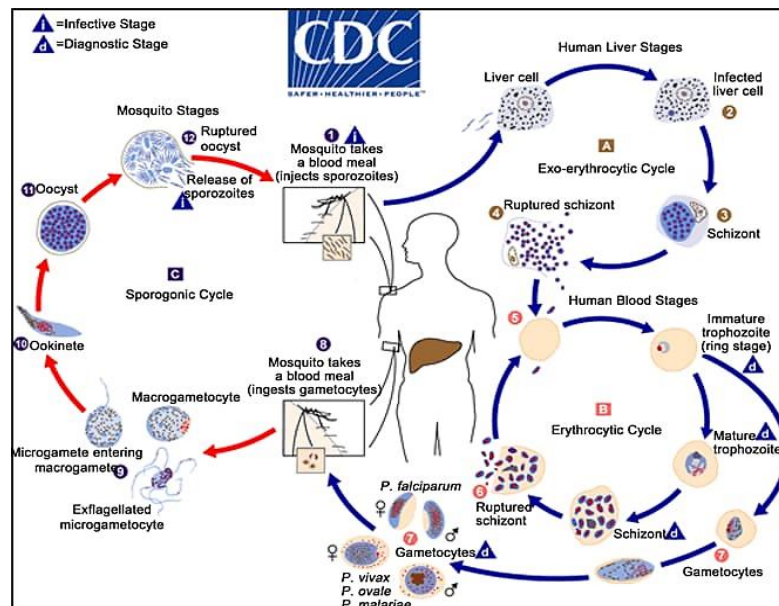


Gambar 5. Morfologi *Plasmodium knowlesi*.

Sumber: Despommier dkk., 2017.

Ukuran eritrosit yang terinfeksi oleh *Plasmodium knowlesi* tidak membesar. Pada trophozoit dewasa, skizon serta gametosit, terdapat titik-titik yang disebut *Mulligan dot*. Stadium trophozoit muda berbentuk cincin kompak. Stadium trophozoit dewasa sedikit *amuboid* dengan bentuk pita serta pigmen yang bervariasi (Kemenkes RI, 2017). Stadium skizon memenuhi seluruh eritrosit, terdiri atas 8–16 merozoit. Stadium gametosit berbentuk bulat, makrogametosit berwarna kebiruan dengan pigmen padat berwarna merah, sedangkan mikrogametosit memiliki sitoplasma keunguan (Tim Fakultas Kedokteran Undip, 2021).

c. Siklus Hidup



Gambar 6. Siklus Hidup *Plasmodium*.

Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.

Parasit *Plasmodium* memerlukan dua host yaitu manusia dan nyamuk *Anopheles* betina untuk siklus hidupnya. Tubuh manusia sebagai inang sementara atau *host intermediate* karena melakukan perkembangbiakan secara aseksual, sedangkan nyamuk *Anopheles* betina sebagai inang tetap atau *host definitive* karena melakukan perkembangbiakan secara seksual (Kemenkes RI, 2022).

1) Siklus pada Manusia (Aseksual)

a) Fase Hati

Nyamuk *Anopheles* betina yang infeksiif menghisap darah manusia, sporozoit pada kelenjar liur nyamuk akan masuk ke dalam peredaran darah, setelah itu masuk ke dalam sel hati dan menjadi tropozoit hati, kemudian berkembang menjadi skizon hati yang terdiri dari 10.000–30.000 merozoit

hati. Siklus ini disebut siklus ekso-eritrositer yang berlangsung sekitar dua minggu (Kemenkes RI, 2022).

Sporozoit mulai masuk sampai ke sel hati dengan jarak waktu sekitar 30 menit. Dalam waktu 7–21 hari, parasit akan tumbuh dan berkembang biak memenuhi seluruh sel hati. Selanjutnya, sel hati pecah dan parasit masuk ke aliran darah untuk menginfeksi sel darah merah (Kemenkes RI, 2022).

b) Fase Sel Darah Merah

Merozoit yang berasal dari skizon hati yang pecah akan masuk ke dalam peredaran darah dan menginfeksi eritrosit. Di dalam eritrosit, parasit *Plasmodium* berkembang dari stadium trophozoit sampai skizon (8–30 merozoit). Proses perkembangan aseksual ini disebut skizogoni. Selanjutnya skizon akan pecah dan merozoit membebaskan trophozoit untuk menginfeksi sel darah merah lainnya. Siklus ini akan berlanjut sampai tiga kali (Kemenkes RI, 2022).

Merozoit *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium ovale* akan menginfeksi eritrosit muda tidak lebih dari 2%. *Plasmodium malariae* menginfeksi eritrosit tua tidak lebih dari 1%. *Plasmodium falciparum* dapat menginfeksi semua stadium eritrosit hingga 10–40%. Akibatnya, angka infeksi eritrosit sangat tinggi dan sering menimbulkan komplikasi berat. Siklus ini disebut siklus eritrositer (Kemenkes RI, 2022).

c) Masa Inkubasi dan Masa Prepaten

Masa inkubasi intrinsik adalah waktu mulai masuknya sporozoit ke dalam darah manusia hingga timbulnya gejala klinis, yaitu sampai pecahnya skizon dan masuknya merozoit ke dalam aliran darah. Waktu ini meliputi fase ekso-eritrositer ditambah siklus skizogoni. *P. falciparum* memiliki masa inkubasi 8–25 hari, *P. vivax* 8–27 hari, *P. malariae* 15–40 hari, *P. ovale* 15–18 hari dan *P. knowlesi* 9–12 hari.

Masa prepaten adalah rentang waktu sejak sporozoit masuk ke tubuh manusia sampai parasit *Plasmodium* dapat dideteksi di dalam sel darah merah. Setelah tiga siklus skizogoni darah, sebagian merozoit akan membentuk stadium seksual yaitu gametosit. Apabila gametosit terhisap oleh nyamuk *Anopheles* betina, kemudian siap melakukan perkembangbiakan seksual (Kemenkes RI, 2017).

2) Siklus pada Nyamuk *Anopheles* Betina (Seksual)

Siklus seksual dimulai apabila satu pasang gametosit terhisap nyamuk bersama darah penderita, hingga terjadi proses perkawinan. Akhirnya terbentuk zigot, kemudian berubah bentuk menjadi ookinet yang bergerak menembus dinding lambung nyamuk, dan selanjutnya menjadi ookista yang membulat disebut sporoblast. Dan terbentuklah sporozoit dalam tubuh vektor, yang

kemudian menuju kelenjar liur nyamuk, sehingga nyamuk menjadi infeksius atau disebut vektor (Kemenkes RI, 2022).

Masa inkubasi ekstrinsik yaitu waktu mulai saat masuknya gametosit ke dalam tubuh nyamuk sampai dengan terbentuknya sporozoit yang kemudian masuk ke dalam kelenjar liur nyamuk. Masa inkubasi ekstrinsik pada suhu optimal 26,7 °C dan pada suhu 32°C parasit *Plasmodium* akan mati (Kemenkes RI, 2022).

3. Diagnosis Malaria

Diagnosis malaria ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Tetapi, diagnosis pasti malaria harus ditegakkan melalui pemeriksaan sediaan darah secara mikroskopis atau uji diagnostik cepat *Rapid Diagnostic Test* (Kemenkes RI, 2018).

Penderita malaria akibat parasit *Plasmodium* dapat ditemukan gejala klinis seperti demam tinggi, sakit kepala, menggigil, nyeri di seluruh tubuh, dan pada beberapa kasus dapat disertai gejala lainnya berupa mual, muntah serta diare (Elbands dkk., 2022).

Pemeriksaan laboratorium malaria bertujuan untuk keperluan diagnosis, pemantauan dan efektivitas pengobatan, serta surveilans. Diagnosis pasti malaria bisa dilakukan dengan pemeriksaan darah, baik secara mikroskopis, maupun *Rapid Diagnostic Test* (RDT) dan dapat juga diperiksa dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Saat ini metode mikroskopis merupakan *gold standard* untuk pemeriksaan malaria.

a. Pemeriksaan secara Mikroskopis

Pemeriksaan malaria secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan sediaan darah (SD) tebal dan tipis, selanjutnya dilakukan pewarnaan dan diperiksa di bawah mikroskop perbesaran lensa objektif 100x menggunakan minyak imersi. Sediaan darah (SD) tebal ditujukan untuk mengidentifikasi parasit secara cepat dan menghitung jumlah parasit, sedangkan sediaan darah (SD) tipis untuk melihat morfologi parasit lebih detail (Kemenkes RI, 2020).

Mikroskop dalam kondisi ideal, dapat mendeteksi sekitar 3–4 parasit/ μ L darah, tetapi di lapangan biasanya baru terdeteksi pada kisaran 50–500 parasit/ μ L darah. Jika jumlah parasit terlalu sedikit yaitu <50–100 parasit/ μ L darah, hasil pemeriksaan bisa menjadi negatif palsu (Berzosa dkk., 2018 dan Fila-Fila dkk., 2024).

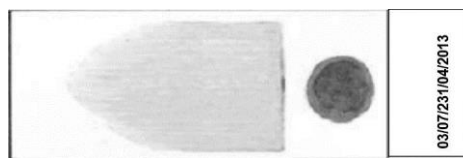
1) Sediaan Darah Tebal

Sediaan darah tebal digunakan untuk mengidentifikasi parasit dengan cepat, menentukan ada atau tidaknya parasit dalam sel darah merah serta untuk penentuan berat ringannya penyakit. Sediaan ini terdiri dari sejumlah eritrosit yang telah terlisiskan, sehingga parasit yang terdapat di dalamnya akan terkonsentrasi pada area yang lebih kecil. Dengan demikian, parasit akan lebih mudah terlihat di bawah mikroskop (Kemenkes RI, 2020).

2) Sediaan Darah Tipis

Sediaan darah tipis terdiri atas satu lapisan sel darah merah yang tersebar merata. Sediaan ini digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis *Plasmodium* setelah parasit ditemukan pada sediaan darah tebal. Melalui sediaan darah tipis, morfologi parasit dapat diamati dengan jelas dalam eritrosit, melalui pengamatan secara mikroskopis. Sehingga memudahkan identifikasi spesies *Plasmodium* (Kemenkes RI, 2020).

Sediaan darah tebal yang baik memiliki diameter ± 1 cm, tidak terfiksasi dan tulisan pada label masih terlihat dengan jelas. Sedangkan pada sediaan darah tipis terdapat bagian tipis berbentuk lidah dengan panjang ± 1 cm pada ujungnya (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 7. Sediaan Darah Malaria.
Sumber: Kemenkes RI, 2020.

b. Pemeriksaan dengan *Rapid Diagnostic Test* (RDT)

Pemeriksaan RDT untuk mendeteksi adanya antigen *Plasmodium* yang ada di dalam tubuh penderita. RDT malaria merupakan salah satu alat deteksi malaria yang memiliki fleksibilitas tinggi di lapangan dan menghasilkan diagnosis malaria dalam waktu yang relatif lebih cepat. Pemeriksaan RDT bersifat kualitatif, sehingga tidak dapat digunakan untuk pemantauan pengobatan (Kemenkes RI, 2020).

RDT umumnya hanya dapat mendeteksi malaria jika jumlah parasit cukup tinggi, yaitu sekitar 50–100 parasit/ μ L darah. Karena itu, infeksi dengan parasit yang sangat sedikit atau infeksi ringan sering tidak terdeteksi dan bisa menimbulkan hasil negatif palsu (Mbanefo dan Kumar, 2020).

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

Pemeriksaan PCR adalah pemeriksaan secara molekuler dengan cara memeriksa DNA dari darah penderita. PCR saat ini digunakan dalam penelitian dan dapat digunakan untuk konfirmasi malaria apabila jumlah parasit berada di bawah ambang mikroskop, yaitu pasien diduga malaria tetapi tidak terdeteksi pada pemeriksaan mikroskopis (Kemenkes RI, 2020).

PCR mendeteksi DNA parasit sehingga jauh lebih sensitif dibanding mikroskopis dan RDT, bahkan mampu menemukan parasit dalam jumlah sangat sedikit sekitar 0.5–5 parasit/ μ L. PCR sangat berguna untuk memastikan kasus negatif palsu (Berzosa dkk., 2018).

4. Pewarnaan Giemsa

Pemeriksaan malaria dapat dilakukan dengan beberapa metode, namun yang paling sering digunakan dan menjadi standar WHO adalah metode pewarnaan Giemsa. Keuntungan pewarnaan Giemsa adalah biaya murah dan prosedur mudah. Pewarnaan Giemsa banyak digunakan untuk menilai bentuk sel darah dalam pemeriksaan sediaan darah, serta memberi kontras signifikan antara inti dan sitoplasma parasit (Indrawan dkk., 2025).

a. Giemsa

Giemsa merupakan pewarnaan diferensial yang terdiri dari tiga kombinasi zat pewarna yaitu eosin, *methylene blue* dan *methylene azure*. *Methylene blue* dan *methylene azure* bersifat basa sehingga dapat mewarnai komponen sel menjadi warna biru. Sedangkan eosin bersifat asam sehingga akan mewarnai komponen sel menjadi warna merah. Inti parasit mampu terwarnai oleh pewarna yang bersifat asam menjadi merah, sedangkan sitoplasma terwarnai oleh pewarna yang bersifat basa menjadi biru (Hartati dkk., 2024 dan Riyadi dkk., 2021).

Konsentrasi Giemsa yang dianjurkan oleh WHO dan Kemenkes RI adalah 3% dengan lama waktu pewarnaan 45–60 menit. Hasil pewarnaan Giemsa 3% dinilai baik untuk identifikasi parasit malaria oleh petugas laboratorium, karena eritrosit akan lisis dan *Plasmodium* terlihat sehingga dapat dihitung jumlahnya. WHO juga menetapkan metode cepat dengan konsentrasi 10%. Metode cepat biasanya digunakan di klinik rawat jalan atau laboratorium dengan jumlah pasien malaria yang banyak, di mana diagnosis cepat sangat dibutuhkan untuk menunjang perawatan pasien (WHO, 2016).

Hasil pewarnaan Giemsa konsentrasi 10% setara dibandingkan Giemsa standar 3%, yaitu menghasilkan sitoplasma parasit berwarna biru dan inti parasit berwarna merah, sesuai dengan kriteria sediaan darah tipis berkualitas tinggi menurut Kemenkes RI, bahwa warna sediaan tampak jelas dan mudah diidentifikasi (Hassor dkk., 2023).

Lisis eritrosit pada sediaan darah tebal terutama terjadi karena eritrosit tidak difiksasi, sehingga membrannya mudah rusak selama proses pewarnaan. Lisis eritrosit juga dipengaruhi oleh adanya akuades dalam buffer fosfat. Akuades bersifat hipotonik dibandingkan cairan di dalam eritrosit, sehingga menyebabkan air masuk ke dalam sel melalui proses osmosis dan membuat eritrosit membengkak. Jika tekanan di dalam sel meningkat dan melebihi kemampuan membran untuk menahan, maka eritrosit akan lisis (Rahma dkk., 2023). Pada pewarnaan Giemsa, lisis eritrosit pada sediaan darah tebal justru mempermudah visualisasi parasit secara mikroskopis. Setelah eritrosit lisis, parasit terlihat lebih jelas untuk diidentifikasi dan dilakukan perhitungan (WHO, 2016 dan Kawaitouw dkk., 2024).

Pewarnaan Giemsa 10% memiliki keunggulan karena menghasilkan intensitas pewarnaan yang lebih tinggi sehingga memberikan kontras yang lebih jelas dan mendukung tampilan parasit yang lebih tegas, yang berdampak pada meningkatnya jumlah *Plasmodium* yang dapat teramati. Sebaliknya, pada Giemsa 3%, meskipun eritrosit lisis, menghasilkan kontras warna yang lebih lemah sehingga detail parasit kurang jelas dan jumlah *Plasmodium* yang teramati menjadi lebih rendah, yang dapat memengaruhi ketepatan perhitungan (Kawaitouw dkk., 2024).

Perbandingan kualitas pewarnaan Giemsa konsentrasi 3% dan 10% dalam pemeriksaan sediaan darah, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Kualitas Pewarnaan Giemsa 3% dan 10%.

Parameter	Giemsa Konsentrasi 3%	Giemsa Konsentrasi 10%
Morfologi Eritrosit	Eritrosit tampak utuh dengan warna merah muda keabuan, morfologi sel jelas.	Eritrosit tetap utuh, warna merah muda keabuan terjaga, bentuk sel jelas seperti pada Giemsa 3%.
Inti <i>Plasmodium</i>	Inti berwarna merah, kontras jelas, dan mudah dikenali.	Warna inti tetap merah dan kontras baik, sesuai hasil pada Giemsa 3%, sehingga mudah dikenali.
Sitoplasma <i>Plasmodium</i>	Sitoplasma berwarna biru terang, homogen, dan terlihat jelas.	Sitoplasma warna biru terang dan homogen, jelas, kualitas konsisten dengan Giemsa 3%.
Kemudahan Identifikasi Parasit	Parasit mudah dikenali karena kontras inti dan sitoplasma baik, pemeriksaan akurat.	Identifikasi parasit tetap akurat karena kontras inti dan sitoplasma terjaga, setara dengan hasil pada Giemsa 3%.
Jumlah <i>Plasmodium</i> Teramati	Jumlah <i>Plasmodium</i> teramati lebih sedikit karena kontras warna yang dihasilkan tidak sekuat Giemsa 10%. Meskipun eritrosit mengalami lisis, parasit kurang optimal dalam menyerap zat warna, morfologi parasit tampak kurang tegas dan sebagian sulit diidentifikasi. Sehingga menurunkan jumlah parasit yang dapat dihitung secara akurat.	Jumlah <i>Plasmodium</i> teramati lebih banyak karena konsentrasi Giemsa lebih tinggi menghasilkan proses pewarnaan yang lebih cepat, kontras warna lebih jelas, serta lisis eritrosit lebih optimal untuk melepaskan parasit tanpa merusak morfologinya. Parasit tampak lebih jelas dan mudah dihitung, sehingga meningkatkan akurasi pemeriksaan.
Kesesuaian Standar Pemeriksaan	<i>Gold standard</i> WHO dan Kemenkes RI untuk pemeriksaan rutin malaria dengan waktu pewarnaan yang lebih lama.	Diakui WHO sebagai metode cepat / <i>rapid staining</i> di klinik rawat jalan atau laboratorium dengan situasi beban pasien yang tinggi.
Kelebihan Utama	Standar pewarnaan internasional, hasilnya stabil, konsisten untuk penilaian mikroskopis.	Waktu pewarnaan lebih singkat, kontras warna terjaga baik, parasit tampak lebih banyak.

Sumber: Hormalia dkk., 2018 dan Kemenkes RI, 2020.

b. Buffer Fosfat

Pewarnaan Giemsa pada sediaan apusan darah tepi umumnya menggunakan pelarut buffer fosfat. Larutan buffer fosfat terdiri atas campuran asam lemah *potassium dihydrogen phosphate* (KH_2PO_4) dan basa konjugat *disodium hydrogen phosphate* (Na_2HPO_4) yang dilarutkan dengan akuades. Nilai pH optimum buffer fosfat dalam pewarnaan Giemsa adalah pH 7,2. Buffer fosfat pH 7,2 mampu menjaga kestabilan pH selama proses pewarnaan, sehingga perubahan pH yang dapat menurunkan kualitas pewarnaan dapat dihindari. Penggunaan buffer fosfat pH 7,2 membantu memastikan pewarnaan optimal dan pengenalan fitur spesifik parasit malaria (WHO, 2016).

Larutan buffer fosfat pH 7,2 berfungsi mengencerkan larutan stok Giemsa sehingga komponen pewarna seperti eosin, *methylene blue* dan *methylene azure* berada dalam kondisi yang sesuai untuk berikatan dengan struktur sel darah merah dan parasit. Sebagai larutan penyangga, buffer fosfat memastikan pH tetap berada dalam rentang optimal. Apabila pH larutan terlalu asam ($\text{pH} < 7,2$), hasil pewarnaan menjadi terlalu merah atau pucat, sebaliknya jika pH terlalu basa ($\text{pH} > 7,2$), hasil pewarnaan menjadi terlalu biru dan gelap. pH buffer fosfat yang tidak tepat, menyebabkan penyerapan zat warna oleh eritrosit dan parasit kurang maksimal, sehingga memengaruhi kejelasan pengamatan mikroskopis (Kemenkes RI, 2017).

c. Metanol

Metanol yang digunakan dalam fiksasi sediaan darah tipis, bertujuan untuk melekatkan sediaan darah tipis pada kaca objek dan mempertahankan bentuk sel agar tidak lisis saat dilakukan pewarnaan, sehingga morfologi sel tetap sempurna (Kemenkes RI, 2020).

5. Pemeriksaan Sediaan Darah Malaria

Pemeriksaan sediaan darah (SD) tebal dan tipis secara mikroskopis merupakan standar baku emas (*gold standard*) pemeriksaan malaria. Pemeriksaan metode ini dilakukan dengan identifikasi langsung parasit *Plasmodium* pada sediaan darah pasien menggunakan mikroskop setelah dilakukan pewarnaan Giemsa. SD tebal ditujukan untuk mengidentifikasi parasit secara cepat dan menghitung jumlah parasit, sedangkan SD tipis untuk melihat morfologi parasit lebih detail (Kemenkes RI, 2020).

Mikroskop merupakan alat utama dalam pemeriksaan malaria secara mikroskopis, karena memungkinkan pengamatan langsung terhadap keberadaan parasit *Plasmodium* pada sediaan darah yang telah diwarnai Giemsa. Pemeriksaan ini dilakukan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan lensa okuler 10 kali dan lensa objektif 100 kali untuk memperoleh perbesaran total hingga 1000 kali (Kemenkes RI, 2020).

Penggunaan minyak imersi pada lensa objektif 100 kali sangat penting dalam identifikasi morfologi *Plasmodium*, terutama pada sediaan darah tipis. Tanpa minyak imersi, cahaya yang diteruskan dari preparat ke lensa akan menyebar, sehingga detail gambar sulit terlihat (Siagian, 2024).

a. Penilaian Kualitas Pewarnaan Sediaan Darah

Pemeriksaan kualitas pewarnaan pada sediaan darah tipis dilakukan secara mikroskopis pada 10 LP untuk menilai hasil pewarnaan, khususnya pada inti dan sitoplasma *Plasmodium*. Pengamatan pada 10 LP ini dianggap sudah mewakili kualitas pewarnaan secara keseluruhan sehingga penilaian pewarnaan dapat dilakukan secara akurat (Kemenkes RI, 2020).

Kualitas hasil pewarnaan sediaan darah diamati di bawah mikroskop dengan kriteria penilaian sebagai berikut.

Tabel 2. Skor Penilaian Hasil Pewarnaan Sediaan Darah.

Skor	Keterangan	<i>Plasmodium</i>	
		Sitoplasma	Inti
3	Baik	Berwarna biru	Berwarna merah
2	Cukup Baik	Berwarna biru pucat	Berwarna merah pucat
1	Tidak Baik	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi

Sumber: Hormalia dkk., 2018 dan Kemenkes RI, 2020.

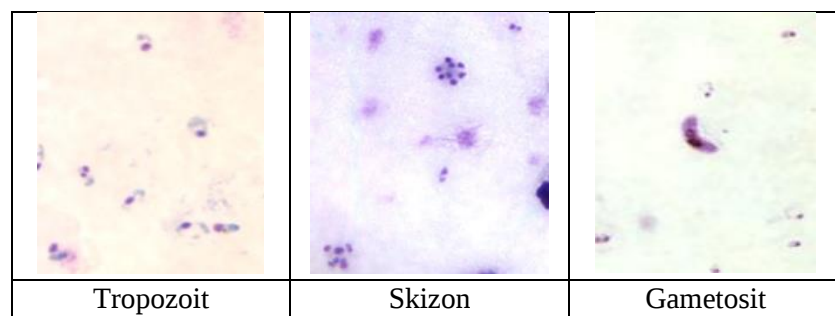
b. Pengamatan Parasit pada Sediaan Darah

1) *Plasmodium falciparum*

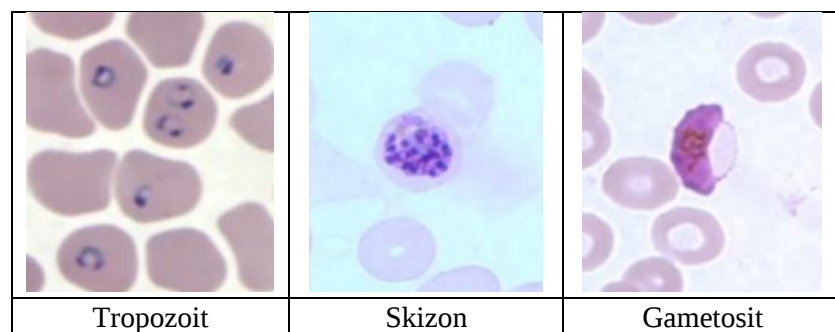
Gambaran parasit *Plasmodium falciparum* yang ditemukan pada sediaan darah tebal dan tipis terlihat pada gambar berikut.

- a) Trophozoit → Bentuk yang sering ditemukan cincin dan koma. Ukuran kecil sampai sedang. Inti terkadang ditemukan berinti dua. Sitoplasma teratur, halus sampai tebal.

- b) Skizon → Ukuran kecil. Stadium lanjut terdiri dari 12-30 merozoit (biasanya 20), berkelompok. Pigmen menggumpal.
- c) Gametosit → Stadium muda dengan ujung lancip jarang ditemukan. Stadium lanjut berbentuk seperti pisang atau bulat. Inti tunggal, pigmen tersebar (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 8. *Plasmodium falciparum* pada Sediaan Darah Tebal.
Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.



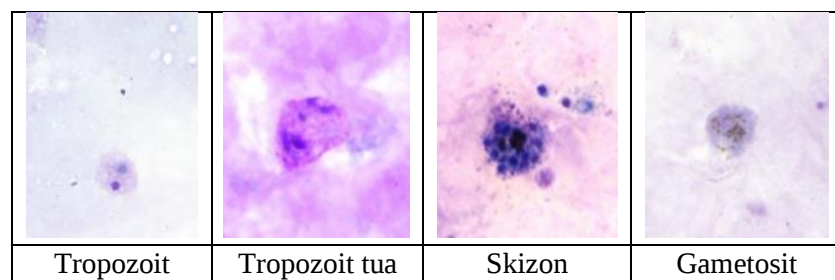
Gambar 9. *Plasmodium falciparum* pada Sediaan Darah Tipis.
Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.

2) *Plasmodium vivax*

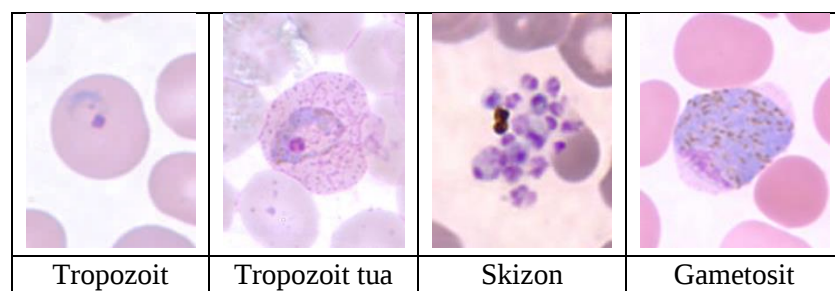
Gambaran parasit *Plasmodium vivax* yang ditemukan pada sediaan darah tebal dan tipis terlihat pada gambar berikut.

- a) Tropozoit → Ukuran kecil sampai besar. Bentuk yang sering ditemukan cincin dengan sitoplasma terputus-putus sampai sitoplasma yang tidak teratur. Inti tunggal, kadang-kadang dua. Stadium lanjut kompak, padat, pigmen halus tersebar.

- b) Skizon → Ukuran besar. Jumlah sedikit sampai sedang. Stadium lanjut terdiri dari 12- 24 merozoit (biasanya 16), tersebar tidak merata. Pigmen tidak menggumpal.
- c) Gametosit → Stadium muda sulit dibedakan dengan tropozoit tua. Stadium lanjut tampak bulat dan besar. Inti tunggal, jelas. Pigmen tersebar, halus (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 10. *Plasmodium vivax* pada Sediaan Darah Tebal.
Sumber: *Centers for Disease Control and Prevention*, 2024.



Gambar 11. *Plasmodium vivax* pada Sediaan Darah Tipis.
Sumber: *Centers for Disease Control and Prevention*, 2024.

3) *Plasmodium malariae*

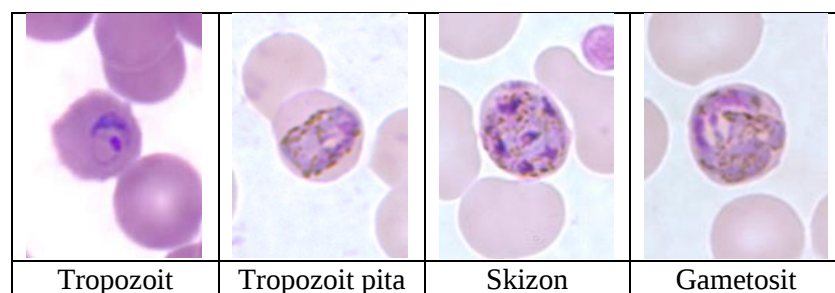
Gambaran parasit *Plasmodium malariae* yang ditemukan pada sediaan darah tebal dan tipis terlihat pada gambar berikut.

- a) Tropozoit → Ukuran kecil. Sering ditemukan bentuk cincin sampai bulat. Sitoplasma teratur, tebal. Inti tunggal. Pigmen banyak, tersebar berwarna kuning pada stadium lanjut.

- b) Skizon → Ukuran kecil, kompak. Stadium lanjut terdiri dari 6-12 merozoit (biasanya 8) dan tersebar. Pigmen berkumpul.
- c) Gametosit → Stadium muda sulit dibedakan dengan tropozoit tua. Stadium lanjut bulat, kompak. Inti tunggal, jelas. Pigmen tersebar, kasar (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 12. *Plasmodium malariae* pada Sediaan Darah Tebal.
Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.



Gambar 13. *Plasmodium malariae* pada Sediaan Darah Tipis.
Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.

4) *Plasmodium ovale*

Gambaran parasit *Plasmodium ovale* yang ditemukan pada sediaan darah tebal dan tipis terlihat pada gambar berikut.

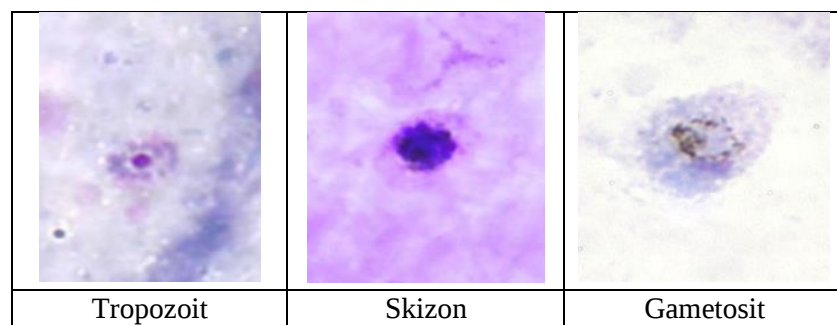
- a) Tropozoit → Ukuran lebih kecil dari *Plasmodium vivax*. Bentuk yang sering ditemukan cincin sampai bulat atau kompak. Inti tunggal, menonjol. Sitoplasma agak teratur, tebal. Pigmen kasar, tersebar.

b) Skizon → Ukuran lebih menyerupai *Plasmodium malariae*.

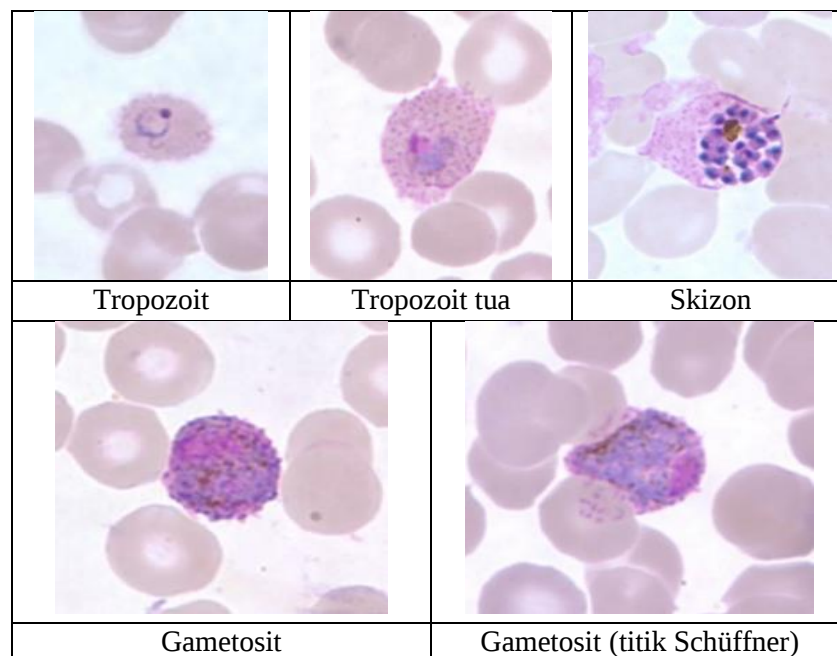
Stadium lanjut terdiri dari 4-12 merozoit (biasanya 8) dan tersebar tidak berkelompok. Pigmen berkumpul.

c) Gametosit → Stadium muda sulit dibedakan dengan tropozoit tua. Stadium lanjut bulat, lebih kecil dari *Plasmodium vivax*.

Inti tunggal, jelas. Pigmen tersebar (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 14. *Plasmodium ovale* pada Sediaan Darah Tebal.
Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.

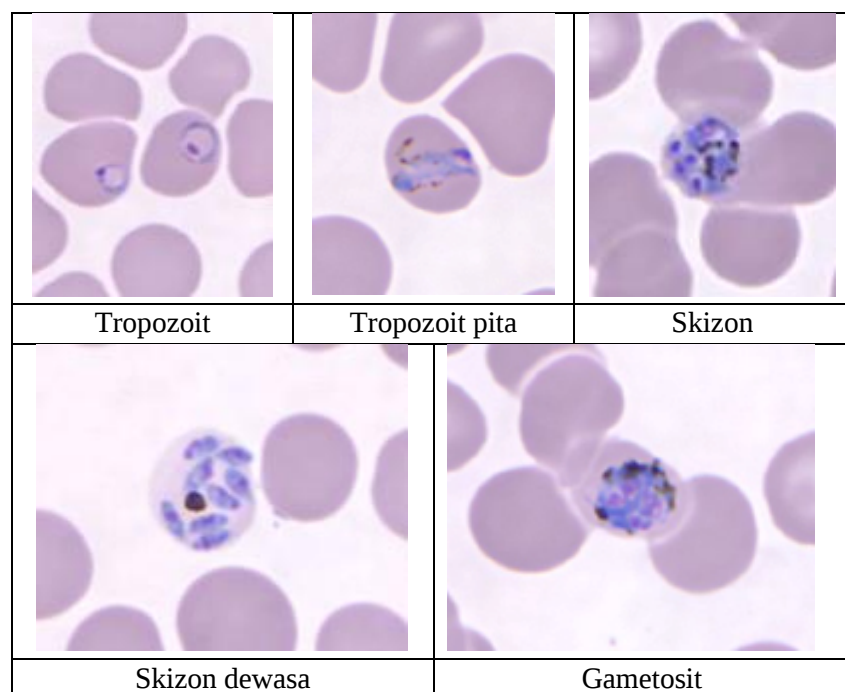


Gambar 15. *Plasmodium ovale* pada Sediaan Darah Tipis.
Sumber: Centers for Disease Control and Prevention, 2024.

5) *Plasmodium knowlesi*

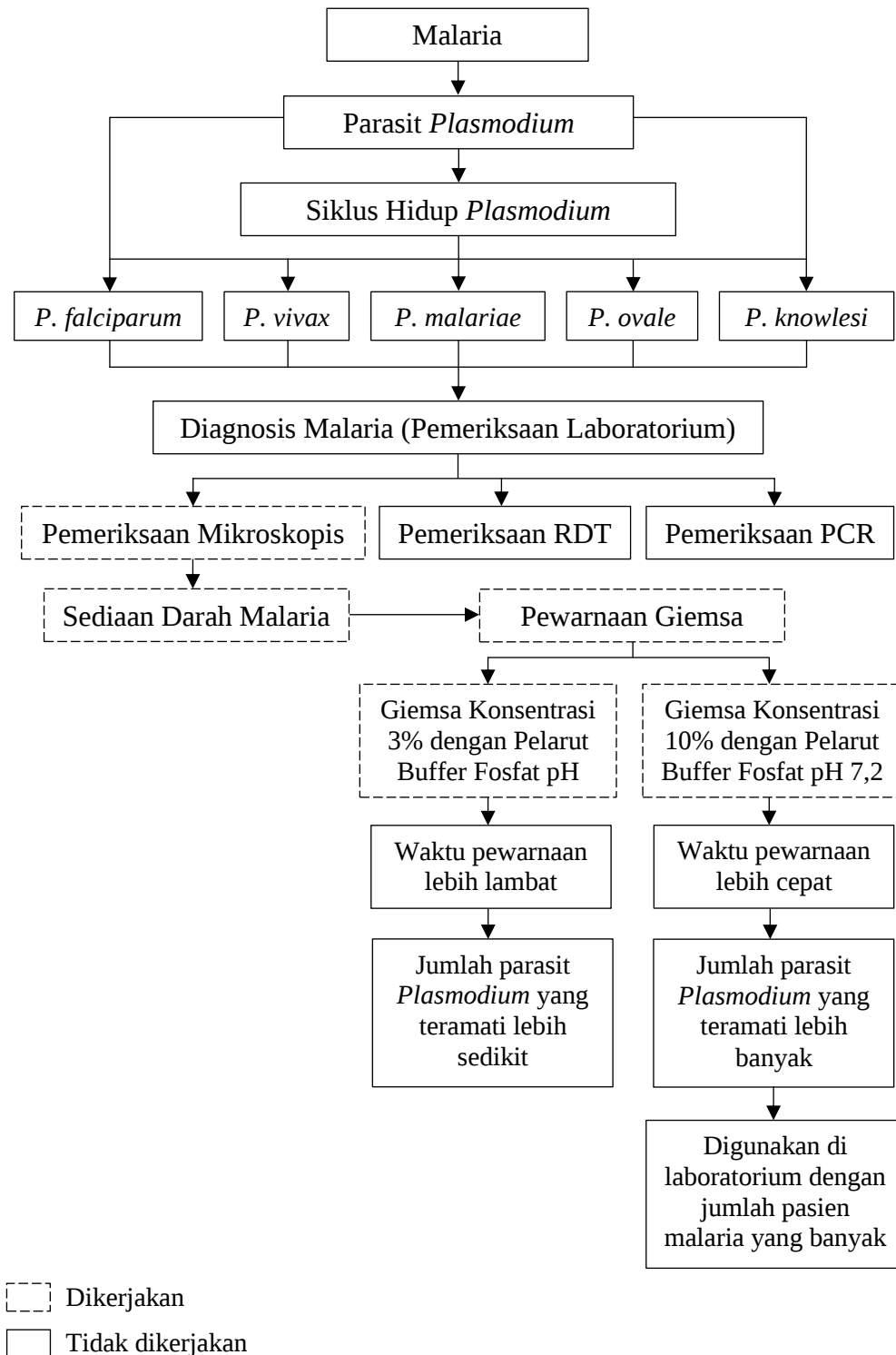
Gambaran parasit *Plasmodium knowlesi* yang ditemukan pada sediaan darah tipis terlihat pada gambar berikut.

- a) Tropozoit → Tropozoit muda bentuk cincin, sitoplasma padat, terdiri dari satu/dua inti. Tropozoit lanjut sitoplasma tebal, sedikit amuboid, bentuk pita. Tropozoit matang sitoplasma padat, pigmen coklat kehitaman, tidak amuboid.
- b) Skizon → Ukuran memenuhi eritrosit, jumlah merozoit 16, tersebar atau mengumpul. Pigmen tersebar atau berkumpul.
- c) Gametosit → Bentuk bulat, kompak, mengisi seluruh bagian eritrosit, pigmen tersebar atau mengelompok. Gametosit muda mirip dengan tropozoit tua (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 16. *Plasmodium knowlesi* pada Sediaan Darah Tipis.
Sumber: *Centers for Disease Control and Prevention*, 2024.

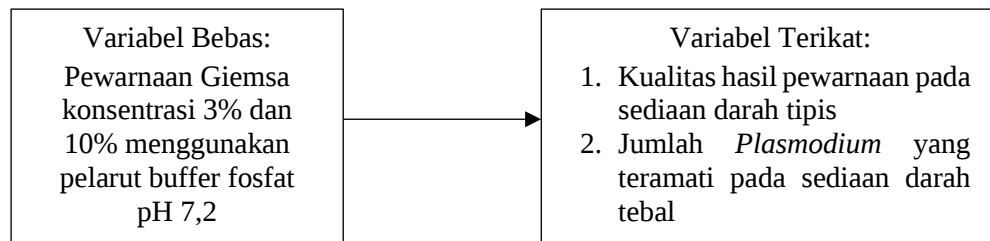
B. Kerangka Teori



Gambar 17. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel pada penelitian ditunjukkan pada gambar 18.



Gambar 18. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Sediaan dengan pewarnaan Giemsa konsentrasi 10% yang dilarutkan menggunakan pelarut buffer fosfat pH 7,2 memberikan kualitas hasil pewarnaan yang setara dibanding dengan Giemsa konsentrasi 3% serta menghasilkan jumlah *Plasmodium* teramati yang lebih banyak.