

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian yang berjudul “Analisis Perbedaan Hasil Perhitungan Jumlah Plasmodium pada Pewarnaan Giemsa dengan Pelarut Akuades dan Buffer Fosfat pH 7,2” telah selesai dilakukan pada tanggal 2 Januari hingga 26 Maret 2026 yang bertempat di Laboratorium Puskesmas Gedongtengen Kota Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan sampel darah sisa pasien positif malaria yang diperoleh dari Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Pengambilan sampel dan pembuatan sediaan apusan darah dilakukan oleh petugas ATLM di Laboratorium Puskesmas Kokap 2, Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Sampel tersebut dikirim ke peneliti dalam bentuk slide yang sudah difiksasi dengan metanol absolut 95%, proses fiksasi dilakukan untuk mempertahankan bentuk sel agar tidak mengalami kerusakan.

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 16 sampel sediaan darah malaria positif yang memenuhi kriteria inklusi. Setiap sampel dibuat menjadi 2 preparat untuk dua perlakuan pewarnaan yang berbeda, sehingga total preparat yang digunakan sebanyak 32 slide. Sebanyak 16 preparat diwarnai menggunakan Giemsa 10% dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 sebagai perlakuan kontrol dan 16 preparat lainnya diwarnai menggunakan Giemsa 10% dengan pelarut akuades sebagai perlakuan modifikasi.

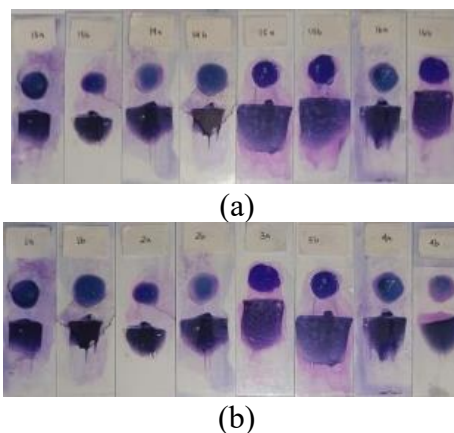
Uji kualitas dan pewarnaan sediaan malaria dilakukan oleh peneliti di Laboratorium Puskesmas Gedongtengen. Uji kualitas dilakukan bertujuan untuk memastikan bahan yang akan digunakan masih berada dalam kondisi bagus dan layak pakai. Peneliti melakukan uji kualitas terhadap cat Giemsa, buffer, dan minyak imersi. Hasil uji kualitas mutu cat Giemsa didapatkan adanya lingkaran biru di bagian tengah, lingkaran cincin ungu berada di luarnya serta lingkaran tipis warna merah pada bagian tepi. Hasil uji kualitas mutu buffer pH 7,2 dilakukan dengan alat pH meter. Selain itu, hasil uji kualitas mutu terhadap minyak imersi masih menunjukkan adanya kekentalan, berwarna transparan dan tidak adanya kekeruhan. Dari hasil uji kualitas mutu ini menunjukkan bahwa bahan-bahan tersebut memenuhi syarat dan ketentuan sehingga masih layak untuk digunakan dalam proses penelitian.

Proses pengecatan sediaan malaria dibagi menjadi 2 perlakuan, perlakuan kontrol dan perlakuan modifikasi. Perlakuan kontrol yaitu Giemsa konsentrasi 10% dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2, sedangkan perlakuan modifikasi dilakukan dengan pewarnaan Giemsa konsentrasi 10% menggunakan pelarut akuades.

Penilaian mikroskopis sediaan apus darah dilakukan oleh petugas ATLM (expert) yang memiliki sertifikat pelatihan mikroskopis malaria. Terdiri dari 1 penilai yang berasal dari Puskesmas Gedongtengen. Lama proses penilaian berlangsung selama 3 bulan dari tanggal 3 Januari hingga 26 Maret 2026.

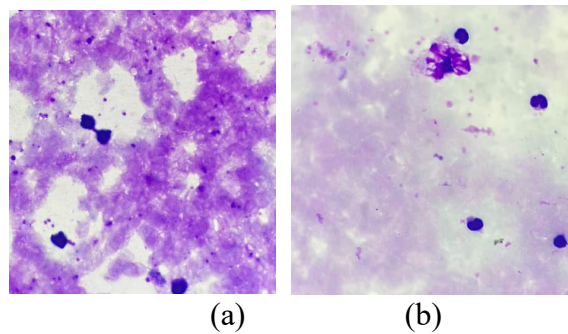
1. Analisis Deskriptif

Subjek penelitian adalah sediaan darah tebal dari sisa darah 16 orang pasien yang telah dinyatakan positif malaria. Setiap sampel darah dibuat menjadi dua sediaan, yaitu untuk perlakuan pewarnaan Giemsa dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 dan perlakuan pewarnaan Giemsa dengan pelarut akuades. Hasil pewarnaan sediaan malaria ditunjukkan dengan gambar 16.



Gambar 10. Preparat Hasil Pewarnaan dengan Giemsa
(a) pelarut buffer fosfat pH 7,2 (b) pelarut Akuades
Sumber : Data Primer Terolah 2026

Hasil pewarnaan sediaan malaria diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis, preparat dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 menunjukkan kualitas warna yang lebih baik dibandingkan dengan preparat menggunakan akuades. Warna preparat tampak lebih stabil, kejernihan warna lebih baik, dan detail sel lebih mudah diamati.. Hasil mikroskopis ditunjukkan dengan gambar 11.



Gambar 11. Hasil Mikroskopis Sediaan darah
(a) Pelarut Buffer fosfat (b) Pelarut akuades
Sumber : Data Primer Terolah 2026

Secara mikroskopis, preparat dengan buffer fosfat pH 7,2 menunjukkan morfologi Plasmodium yang lebih jelas, terutama pada bagian inti dan sitoplasma. Inti parasit tampak lebih tegas dengan warna merah hingga merah pucat, sedangkan sitoplasma tampak berwarna biru pucat. Pada preparat dengan pelarut akuades, beberapa sediaan menunjukkan inti dan sitoplasma yang tidak berwarna atau sulit diidentifikasi sehingga kualitas visual preparat menjadi lebih rendah.

Penilaian hasil pewarnaan dilakukan berdasarkan skor makroskopis dan pengamatan mikroskopis terhadap jumlah Plasmodium, kejelasan inti, dan kejelasan sitoplasma.

a. Makroskopis

Penilaian makroskopis dilakukan terhadap kualitas hasil pewarnaan sediaan malaria yang meliputi warna preparat, pemerataan pewarnaan, kebersihan permukaan, dan kejernihan warna. Hasil penilaian kemudian dirata-ratakan untuk membandingkan penggunaan pelarut buffer fosfat pH 7,2 dan aquades.

Tabel 5. Data Rata-rata Penilaian Makroskopis

Parameter	Skor	
	Buffer Fosfat pH 7,2	Aquadest
Warna Preparat	2,88	2,00
Kemerataan Pewarnaan	2,00	2,00
Kebersihan Permukaan	2,00	2,00
Kejernihan Warna	2,38	2,81
Rata-rata Total	2,31	2,20

Sumber : Data Primer Terolah 2026

Data hasil penilaian makroskopis dapat dilihat pada lampiran 11. Pada tabel 5 data rata-rata penilaian makroskopis, preparat dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 menunjukkan kualitas pewarnaan yang lebih baik dibandingkan dengan preparat menggunakan aquades. Nilai rata-rata total pada buffer fosfat pH 7,2 sebesar 2,31, sedangkan pada aquades sebesar 2,20

Hal ini menunjukkan bahwa secara visual beberapa preparat aquades tampak cukup jernih, meskipun terdapat beberapa preparat yang agak keruh namun masih dapat diamati. Namun demikian, kestabilan warna dan ketegasan morfologi parasit tetap lebih baik pada penggunaan buffer fosfat pH 7,2 karena kemampuannya dalam mempertahankan kestabilan pH selama proses pewarnaan, sehingga hasil identifikasi parasit menjadi lebih optimal.

b. Mikroskopis

1) Buffer fosfat pH 7,2

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa jumlah *Plasmodium* pada preparat dengan buffer fosfat pH 7,2 bervariasi dari jumlah rendah hingga tinggi. Sebagian besar inti parasit tampak berwarna merah atau merah pucat, sedangkan sitoplasma tampak berwarna biru pucat. Namun, pada beberapa preparat masih ditemukan inti dan sitoplasma yang tidak berwarna atau sulit diidentifikasi.

Preparat dengan buffer fosfat memberikan hasil pewarnaan yang lebih baik karena morfologi parasit lebih jelas sehingga mempermudah identifikasi dan perhitungan jumlah *Plasmodium*.

Tabel 6. Hasil Mikroskopis dengan Pelarut Buffer fosfat pH 7,2

No.	<i>Plasmodium</i>		Jumlah Plasmodium
	Sitoplasma	Inti	
1.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	4876
2.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah pucat (2)	5431
3.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	7266
4.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	6729
5.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	7462

No.	<i>Plasmodium</i>		Jumlah Plasmodium
	Sitoplasma	Inti	
6.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	11059
7.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	11692
8.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	3962
9.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	7137
10.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	364
11.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	510
12.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	457
13.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	588
14.	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	Berwarna Merah Pucat (2)	397
15.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	552
16.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	522

Sumber : Data Primer Terolah 2026

2) Aquadest

Preparat dengan pelarut akuades, jumlah *Plasmodium* juga menunjukkan variasi yang cukup besar. Namun, lebih banyak ditemukan inti dan sitoplasma yang tidak berwarna atau sulit diidentifikasi dibandingkan pada preparat buffer fosfat. Hal ini menyebabkan kualitas visual preparat menurun dan dapat memengaruhi ketepatan identifikasi parasit.

Hasil mikroskopis pada preparat akuades menunjukkan kualitas yang lebih rendah dibandingkan dengan buffer fosfat pH 7,2, terutama pada kejelasan morfologi *Plasmodium*.

Tabel 7. Hasil Mikroskopis Menggunakan Pelarut *Aquadest*

No.	<i>Plasmodium</i>		Jumlah Plasmodium
	Sitoplasma	Inti	
1.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	6545
2.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	765
3.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	227
4.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	655
5.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	667
6.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	679

No.	<i>Plasmodium</i>		Jumlah Plasmodium
	Sitoplasma	Inti	
7.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	229
8.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	7310
9.	Warna Biru pucat (2)	Berwarna Merah Pucat (2)	6804
10.	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	Berwarna Merah Pucat (2)	6745
11.	Warna biru pucat (2)	Berwarna merah (3)	8235
12.	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	Berwarna merah (3)	6692
13.	Warna biru pucat (2)	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	2178
14.	Warna biru pucat (2)	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	4267
15.	Warna biru pucat (2)	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	686
16.	Tidak ada warna atau tidak dapat diidentifikasi (1)	Berwarna Merah Pucat (2)	1164

Sumber : Data Primer Terolah 2026

2. Analisis analitik

Analisis analitik dilakukan untuk mengetahui perbedaan hasil perhitungan jumlah *Plasmodium* pada sediaan apus darah malaria yang

diwarnai menggunakan Giemsa 10% dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 dan aquades. Perhitungan jumlah *Plasmodium* dilakukan berdasarkan jumlah parasit yang ditemukan pada lapang pandang mikroskop, kemudian dikonversi menjadi kepadatan parasit (*parasite density*) per μL darah.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis pada 16 preparat dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2, jumlah *Plasmodium* yang ditemukan bervariasi dengan nilai terendah sebesar 364 dan tertinggi sebesar 11.692. Rata-rata jumlah *Plasmodium* pada kelompok ini adalah 4.813,88. Sedangkan kelompok aquades, hasil pengamatan pada 16 preparat menunjukkan jumlah *Plasmodium* dengan nilai terendah sebesar 227 dan tertinggi sebesar 8.235. Rata-rata jumlah *Plasmodium* pada kelompok ini adalah 3.053,31.

Secara deskriptif, rata-rata jumlah *Plasmodium* pada kelompok buffer fosfat pH 7,2 lebih tinggi dibandingkan kelompok aquades. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan buffer fosfat pH 7,2 memberikan hasil pewarnaan yang lebih optimal dalam mempertahankan morfologi parasit sehingga identifikasi dan perhitungan jumlah *Plasmodium* menjadi lebih jelas. Data rerata jumlah rerata jumlah *Plasmodium* pada preparat dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 dengan pelarut aquades.

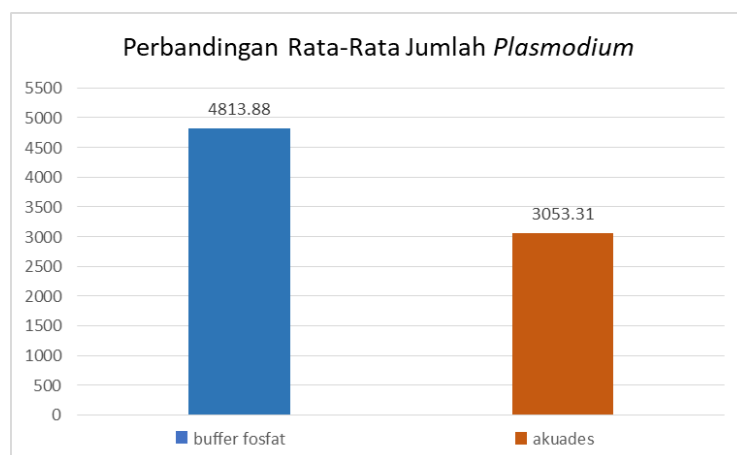
Tabel 8. Data Rata-rata Jumlah Plasmodium Buffer dan Aquadest

Kelompok	Jumlah Sampel	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Rata-rata
Buffer fosfat pH 7,2	16	364	11.692	4.813,88
Aquades	16	227	8.235	3.053,31

Sumber : Data Primer Terolah 2026

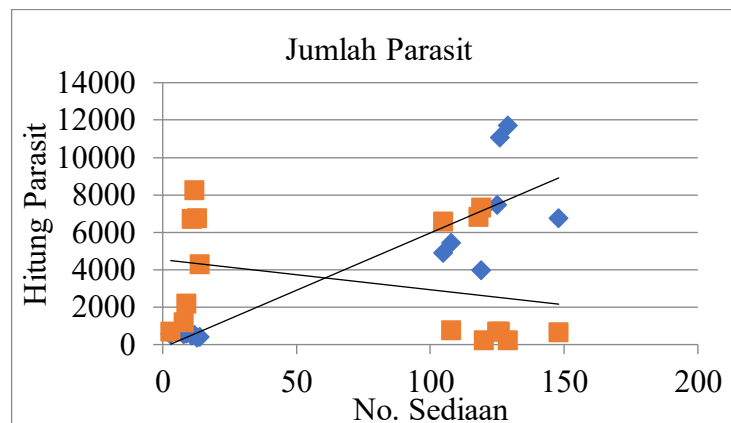
Berdasarkan tabel 8, terlihat bahwa kelompok buffer fosfat pH 7,2 memiliki nilai rata-rata jumlah *Plasmodium* yang lebih tinggi dibandingkan kelompok aquades. Selain itu, nilai maksimum pada kelompok buffer fosfat juga lebih tinggi, yang menunjukkan bahwa pewarnaan dengan buffer fosfat lebih mampu mempertahankan struktur morfologi parasit selama proses pemeriksaan mikroskopis.

Data perbandingan rerata jumlah *Plasmodium* pada preparat dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 dan aquades disajikan dalam bentuk diagram batang yang ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 12. Diagram Batang Perbandingan Rata-Rata Jumlah Plasmodium

Diagram tersebut menunjukkan bahwa buffer fosfat pH 7,2 memberikan hasil jumlah parasit yang lebih baik dibandingkan aquades, karena mampu mempertahankan kestabilan pH selama proses pewarnaan sehingga morfologi inti dan sitoplasma *Plasmodium* tampak lebih jelas.



Keterangan :

◆ Buffer Fosfat pH 7,2

■ Akuades

Gambar 13. Grafik Regresi Hasil Perhitungan Parasit
Analisis regresi linear hitung parasit malaria pada sediaan apusan

darah yang diwarnai menggunakan Giemsa 10% dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 menghasilkan persamaan $\hat{y} = -60,43x + 5.623,44$ dengan nilai $R^2 = 0,0042$, sedangkan pada kelompok aquades diperoleh persamaan $\hat{y} = 49,95x + 2.667,06$ dengan nilai $R^2 = 0,0139$. Sebaran hitung parasit pada kelompok buffer fosfat pH 7,2 berkisar antara 364 hingga 11.692/ μ L, sedangkan pada kelompok aquades berkisar antara 227 hingga 8.235/ μ L, sebagaimana ditunjukkan pada grafik regresi.

Hasil analisis deskriptif dan gambaran distribusi hitung parasit pada grafik regresi, secara keseluruhan penggunaan buffer fosfat pH 7,2 menunjukkan kecenderungan menghasilkan jumlah *Plasmodium* yang lebih tinggi dibandingkan aquades, dengan rata-rata 4.813,88 berbanding 3.053,31 per μ L darah. Hal ini mengindikasikan bahwa buffer fosfat pH 7,2 lebih efektif dalam mendukung kualitas pewarnaan Giemsa 10% sehingga morfologi parasit dapat tervisualisasi dengan lebih baik dan perhitungan jumlah *Plasmodium* menjadi lebih optimal. Selanjutnya, dilakukan analisis

statistik untuk mengetahui apakah perbedaan tersebut bermakna secara statistik.

3. Analisis statistik

Tabel 9. Hasil Uji Normalitas data

Uji Statistik			Derajat Kesalahan	Signifikan
Uji Normalitas Data (<i>Shapiro-wilk</i>)	Skor	Sitoplasma	0,05	0,000
	Buffer fosfat pH 7,2			
	Skor	Sitoplasma	0,05	0,000
	Akuades			
	Skor inti	Buffer fosfat pH 7,2	0,05	0,000
	Skor inti Akuades		0,05	0,003
	Jumlah	Plasmodium	0,05	0,014
	Buffer			
	Jumlah	Plasmodium	0,05	0,002
	Akuades			

Sumber : Data Primer Terolah 2026

Tabel 9 menunjukkan bahwa hasil uji statistik dan jumlah plasmodium dan *Plasodium* (*sioplasma dan inti*) pada sediaan apus darah malaria menggunakan pelarut buffer fosfat pH 7,2 dan akuades tidak berdistribusi normal.

Hipotesis dalam pengambilan keputusan uji normalitas data adalah: Data dinyatakan berdistribusi normal (H_0 diterima) apabila nilai signifikan (Sig) $\geq 0,05$ Sedangkan data dinyatakan tidak berdistribusi normal (H_0 ditolak) apabila nilai signifikan (Sig) $\leq 0,05$.

Hasil diperoleh berdasarkan pembacaan pada uji normalitas data (*Shapiro-wilk*). Pada jumlah *Plasodium* data tidak berdistribusi tidak

normal (diperoleh nilai signifikan $0,014 \leq 0,05$ dan $0,002 \leq 0,05$).

Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney U (*2 Independent Samples*).

Tabel 10. Hasil Uji Mann Whitney-U

Uji Statistik	Hasil Pewarnaan Sediaan Apus Darah Malaria	Signifikan	Interpretasi
Uji Mann Whitney U (<i>2 Independent Samples</i>)	Sitoplasma	0,472	Tidak
	Inti	0,293	Terdapat
	Jumlah	0,498	Perbedaan

Sumber : Data Primer Terolah 2026

Tabel 10 menunjukkan bahwa jumlah plasmodium dan *Plasodium* (*sioplasma dan inti*) pada sediaan apus darah malaria dengan hasil uji didapatkan bahwa H_0 diterima. Sehingga tidak terdapat perbedaan jumlah *Plasmodium* maupun *Plasmodium* (inti dan sitoplasma) pada sediaan darah yang diwarnai Giemsa 10% menggunakan pelarut buffer fosfat dan *aquadest*.

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, jumlah Plasmodium pada sediaan apus darah malaria yang diwarnai menggunakan Giemsa 10% dengan pelarut buffer fosfat pH 7,2 lebih tinggi dibandingkan pelarut aquades. Hasil analisis deskriptif menunjukkan rata-rata jumlah Plasmodium pada kelompok buffer fosfat pH 7,2 sebesar 4.813,88, sedangkan pada kelompok aquades sebesar 3.053,31. Perbedaan ini menunjukkan bahwa buffer fosfat pH 7,2 cenderung menghasilkan jumlah Plasmodium yang lebih banyak teridentifikasi karena mampu mempertahankan kualitas pewarnaan sehingga morfologi parasit

terlihat lebih jelas dan memudahkan proses identifikasi serta perhitungan parasit pada pemeriksaan mikroskopis (WHO, 2021; Fatmawati dkk., 2023).

Buffer fosfat pH 7,2 berfungsi sebagai larutan penyangga yang menjaga kestabilan pH selama proses pewarnaan Giemsa. Komponen zat warna seperti metilen biru, azure, dan eosin bekerja optimal pada pH $7,2 \pm 0,05$, sehingga menghasilkan pewarnaan inti Plasmodium yang lebih jelas dan sitoplasma yang lebih kontras. Sebaliknya, apabila pH tidak sesuai, struktur parasit tampak samar sehingga berisiko menyebabkan undercount pada perhitungan jumlah parasit (WHO, 2016; WHO, 2021; Widyaningsih, 2022). Pada kelompok aquades, rata-rata jumlah Plasmodium yang lebih rendah diduga disebabkan karena aquades tidak memiliki sistem penyangga pH sehingga mudah menyerap CO₂ dari udara dan pH dapat turun menjadi 5,5–6,5, menyebabkan hasil pewarnaan lebih pucat dan morfologi parasit kurang jelas (Fatmawati dkk., 2023).

Hasil uji statistik Mann Whitney U menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,498$), secara deskriptif terdapat selisih rata-rata jumlah Plasmodium sebesar 36,6%. Apabila merujuk pada standar WHO, batas toleransi akurasi penghitungan kepadatan parasit malaria yang dapat diterima adalah $\pm 25\%$ dari jumlah parasit sebenarnya (WHO, 2021; Ashraf dkk., 2012). Dengan demikian, selisih 36,6% tersebut melampaui batas toleransi klinis yang direkomendasikan, sehingga perbedaan ini tetap relevan secara klinis meskipun tidak bermakna secara statistik. Hal ini semakin memperkuat rekomendasi bahwa buffer fosfat pH 7,2 sebaiknya tetap

digunakan sebagai pelarut standar dalam pewarnaan Giemsa untuk pemeriksaan mikroskopis malaria.

Hasil penelitian ini sejalan dengan Awalia (2023) yang menyatakan bahwa aquades masih dapat digunakan sebagai pelarut Giemsa namun hasil perhitungan parasit cenderung lebih rendah dibandingkan buffer fosfat pH 7,2. Hal ini juga didukung oleh Shaubilla (2023) yang menunjukkan buffer fosfat memberikan hasil pewarnaan lebih optimal sehingga identifikasi dan perhitungan Plasmodium lebih mudah dilakukan. Oleh karena itu, meskipun aquades dapat digunakan sebagai alternatif pada kondisi keterbatasan sarana laboratorium, buffer fosfat pH 7,2 tetap lebih direkomendasikan karena memberikan hasil pewarnaan yang lebih stabil dan mendukung ketepatan perhitungan jumlah parasit malaria.

Buffer fosfat pH 7,2 yang digunakan dalam penelitian ini merupakan larutan penyangga yang terdiri dari dua komponen utama, yaitu natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) dan dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4). Natrium dihidrogen fosfat berperan sebagai komponen asam yang berfungsi mendonorkan ion hidrogen (H^+) ketika larutan cenderung menjadi basa, sehingga mencegah kenaikan pH yang berlebihan. Sebaliknya, dinatrium hidrogen fosfat berperan sebagai komponen basa yang menerima ion hidrogen ketika larutan cenderung menjadi asam, sehingga mencegah penurunan pH yang tidak diinginkan. Interaksi antara kedua komponen inilah yang menciptakan sistem kesetimbangan yang mampu mempertahankan pH pada kisaran $7,2 \pm 0,05$ (AAT BioTech, 2023; Ganesh dkk., 2016). Selain kedua

komponen tersebut, larutan juga mengandung natrium klorida (NaCl) yang berfungsi menjaga tekanan osmotik larutan agar sesuai dengan kondisi fisiologis sel darah, sehingga morfologi eritrosit dan parasit tidak mengalami perubahan akibat perbedaan osmolaritas selama proses pewarnaan berlangsung (WHO, 2016).

Penelitian ini, pH aquades secara teoritis memiliki pH netral yaitu 7,0, namun dalam praktiknya pH aquades sangat mudah berubah karena aquades tidak memiliki kapasitas penyangga. Aquades bersifat sangat reaktif terhadap lingkungan sekitarnya dan akan menyerap karbon dioksida (CO_2) dari udara secara spontan, membentuk asam karbonat (H_2CO_3) yang kemudian terdisosiasi menjadi ion bikarbonat dan ion hidrogen, sehingga pH aquades dapat turun ke kisaran 5,5 hingga 6,5 dalam waktu singkat setelah terpapar udara (Fatmawati dkk., 2023; WHO, 2016). Apabila pH aquades dikondisikan terlebih dahulu, maka kondisi tersebut tidak lagi mencerminkan keadaan sebenarnya di fasilitas kesehatan yang menggunakan aquades sebagai alternatif pelarut.

Hal ini tercermin pada grafik regresi, dimana titik-titik sebaran data kelompok buffer fosfat pH 7,2 secara visual tampak berada pada posisi yang lebih tinggi dibandingkan titik-titik sebaran data kelompok aquades pada nomor sediaan yang sebanding sehingga perbedaan hitung parasit yang cukup jauh antara kedua kelompok pada sediaan yang sama dapat diamati secara langsung melalui diagram regresi. Pada preparat dengan buffer fosfat pH 7,2, stabilitas pH selama pewarnaan memastikan zat warna Giemsa berikatan secara optimal dengan komponen seluler parasit, sehingga inti Plasmodium tampak jelas

berwarna merah hingga merah pucat dan sitoplasma berwarna biru pucat. Kejelasan morfologi ini memudahkan pemeriksa untuk mengenali dan menghitung seluruh parasit yang ada pada lapang pandang. Sebaliknya, pada preparat dengan pelarut aquades yang pH-nya tidak terkontrol, pengikatan zat warna menjadi tidak optimal sehingga sebagian parasit tampak pucat, tidak terwarnai sempurna, atau bahkan tidak terdeteksi sama sekali. Kondisi ini mengakibatkan terjadinya undercounting, yaitu jumlah parasit yang terhitung lebih sedikit dari jumlah sebenarnya karena beberapa parasit gagal diidentifikasi secara visual (WHO, 2021; Fatmawati dkk., 2023). Dengan demikian, perbedaan hitung parasit yang terlihat bukan merupakan perbedaan parasitemia yang sesungguhnya, melainkan mencerminkan perbedaan kemampuan kedua pelarut dalam memvisualisasikan parasit secara mikroskopis.

Data lampiran 7 dan 8 terlihat bahwa jumlah hitung parasit terdapat perbedaan dari tinggi semakin menurun bukan disebabkan oleh kesalahan pembacaan, melainkan karena kode-kode sediaan tersebut berasal dari pasien malaria yang berbeda-beda dengan derajat parasitemia yang bervariasi mulai dari ringan hingga sedang/berat. Hal ini diperkuat oleh skor kualitas pewarnaan yang tetap “cukup baik” pada seluruh sediaan, sehingga penurunan jumlah parasite murni mencerminkan kondisi biologis masing-masing pasien, bukan kegagalan teknik atau *human error* dalam pembacaan.

Kelemahan dan kendala penelitian ini adalah pH aquades yang tidak stabil dan mudah dipengaruhi lingkungan sehingga dapat memengaruhi konsistensi hasil pewarnaan. Selain itu penumpukan jadwal pembacaan juga menjadi kendala yang perlu diperrhatikan.