



Jurnal Riset Kesehatan

<http://ejournal.poltekkes-smg.ac.id/ojs/index.php/jrk>

STUDI PERBANDINGAN JUMLAH PARASIT MALARIA MENGGUNAKAN VARIASI WAKTU PEWARNAAN PADA KONSENTRASI GIEMSA 3 % DI LABORATORIUM RSUD Dr. H. CHASAN BOESOIRIE TERNATE

Rony Puasa*)

*Jurusan Analis Kesehatan ; Poltekkes Kemenkes Ternate
Jl. Cempaka ; Kel. Tanah Tinggi Barat ; Kec. Ternate Selatan ; Kota Ternate*

Abstrak

Pemeriksaan malaria yang merupakan *Gold Standart* adalah dengan menggunakan mikroskop. Sediaan darah malaria sebelum diidentifikasi perlu dilakukan pewarnaan dengan zat pewarna giemsa. Tujuan dari pewarnaan adalah agar sel-sel dari plasmodium dapat terwarnai dan mudah diidentifikasi. Zat pewarna giemsa sebelum digunakan sebagai pewarna pada sediaan darah malaria, giemsa tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi tertentu. Variasi lamanya waktu pewarnaan akan berpengaruh terhadap hasil pembacaan sediaan darah malaria tersebut. Variasi konsentrasi yang dianjurkan, baik WHO dan Kementerian Kesehatan adalah 3% dengan lama waktu pewarnaan 45-60 menit. Tujuan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan atau kesamaan jumlah parasit malaria dari setiap variasi waktu pewarnaan menggunakan konsentrasi giemsa 3%. Metode Penelitian yang digunakan yaitu deskriptif dengan jenis penelitian Studi Perbandingan (*Comparatif Study*), hasilnya diuji menggunakan Uji *Anova*. Ada perbedaan yang signifikan antara lama waktu pewarnaan standar 50 menit dengan variasi waktu 40, 30, dan 20 menit.

Kata kunci: Parasit malaria ; Variasi waktu pewarnaan ; Konsentrasi giemsa

Abstract

[COMPARATIVE STUDY OF AMOUNT OF MALARIA PARASITES USING DIFFERENCE TIME VARIATION IN 3% GIEMSA CONCENTRATION IN LABORATORY OF RSUD DR. H. CHASAN BOESOIRIE TERNATE] The malaria examination which is a Gold Standard is by using a microscope. Malaria blood supply prior to identification needs to be stained with giemsa dye. The purpose of the staining is that the cells of the plasmodium can be stained and easily identifiable. The dye of giemsa prior to use as a dye on the malaria blood preparation, the giemsa is made dilution with a certain concentration. Variations in the length of time of coloring will affect the results of the readings of malaria blood supply. The recommended concentration variation, both WHO and Ministry of Health is 3% with 45-60 min staining time. This study aims to determine the difference or similarity of the number of malaria parasites from each time coloring variation using 3% giemsa concentration. Research method was descriptive with Comparative Study, the results are tested using Anova Test. This test is used to compare one average population with one average of the other population. There was a significant difference between standard 50 minute staining time and 40, 30 and 20 minute time variations.

Keywords: Malaria parasites ; Variation of staining time ; The concentration of giemsa

1. Pendahuluan

Malaria masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang dapat

menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi, yaitu bayi, anak balita dan ibu hamil. Malaria secara langsung menyebabkan anemia dan menurunkan produktivitas kerja serta memberikan dampak

*) Rony Puasa
E-mail: ronyyani1962@gmail.com

negatif terhadap pariwisata. Untuk mendiagnosa penyakit malaria secara tepat perlu dilakukan pemeriksaan darah di laboratorium. Ada beberapa cara yang dapat dipakai untuk mengidentifikasi parasit malaria dalam darah seperti; pemeriksaan menggunakan *Rapid Diagnosa Test* (RDT), pemeriksaan mikroskopis, dan pemeriksaan menggunakan *Polimerase Chain Reaction* (PCR.). Pemeriksaan malaria yang mudah dilakukan adalah dengan menggunakan RDT, namun pemeriksaan menggunakan RDT mempunyai kekurangan, sedangkan menggunakan PCR harus menggunakan biaya yang mahal (Staf Pengajar Departemen Parasitologi, FKUI, Jakarta, 2008). Salah satu teknik diagnosa malaria yang paling diyakini dan dapat menemukan jenis serta stadium dari parasit Plasmodium adalah pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan mikroskopis merupakan Gold Standart untuk identifikasi malaria. Cara pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan yang dianjurkan oleh *World Health Organization* (WHO) dan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, (Direktur Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan, 2014).

Pewarnaan giemsa merupakan campuran antara larutan metilen blue dengan larutan eosin, bila sediaan darah diwarnai dengan larutan tersebut, maka akan terlihat eritrosit berwarna merah muda, inti leukosit menjadi lembayung tua, sitoplasma parasit malaria menjadi biru, inti parasit berwarna merah, dan butir kromatin parasit menjadi merah-karmin (Cabogun, 2016). Variasi konsentrasi giemsa yang masih dipakai di sarana kesehatan, baik pemerintah maupun swasta antara lain; 5% dengan lama pewarnaan 45 menit, 10% dengan lama waktu 20–25 menit, 20% dengan lama waktu 15 menit, (Departemen Parasitologi Medis US NAMRU-2 Jakarta, 2009), dan 3% dengan lama waktu 45–60 menit. Variasi konsentrasi yang dianjurkan, baik WHO dan Kementerian Kesehatan adalah 3% dengan lama waktu pewarnaan 45–60 menit. Variasi konsentrasi dan lama pewarnaan berpengaruh terhadap hasil pembacaan sediaan darah (Direktur Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan, 2014).

Dengan adanya ketentuan WHO dan Kementerian Kesehatan tentang konsentrasi giemsa 3% yang dituangkan dalam buku panduan pemeriksaan mikroskopis malaria, maka sarana kesehatan sudah mulai mengikuti anjuran tersebut. Hasil dari pewarnaan dengan konsentrasi giemsa 3% baik untuk melakukan identifikasi parasit malaria oleh petugas

laboratorium, karena eritrosit akan lisis dan plasmodium terlihat dengan jelas, sehingga mudah untuk dihitung jumlahnya. Namun dari segi waktu akan menyita waktu pasien untuk menunggu hasil dilaboratorium dan berdampak kepada pemberian pengobatan oleh dokter, (Direktur Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan, 2014).

Pemeriksaan malaria dengan menggunakan konsentrasi giemsa 3% hingga keluarnya hasil paling cepat dapat menyita waktu 2 jam. Pewarnaan sediaan malaria harus dilakukan dengan waktu yang maksimal dengan harapan zat pewarna giemsa yang digunakan dapat diserap sampai dasar sediaan darah. Eritrosit yang lisis secara sempurna sampai pada dasar sediaan darah tebal akan mempermudah untuk menghitung jumlah plasmodium, dan bila eritrosit tidak lisis secara sempurna maka kemungkinan ada plasmodium yang tidak terhitung disebabkan terhalang oleh eritrosit yang tidak lisis tersebut. Menghitung jumlah parasit malaria yang dianjurkan oleh WHO dan Kemenkes memiliki nilai kesalahan batas bawah dan batas atas dari nilai standar sebesar 25%.

Menghitung parasit malaria merupakan hal yang sering dilakukan terhadap keberhasilan dari suatu pengobatan ataupun resistensi terhadap obat yang anti malaria yang diberikan. Spesies Plasmodium yang di hitung dalam pemeriksaan sediaan darah malaria adalah Plasmodium *falcifarum* karena spesies ini dapat menyebabkan malaria otak dan berisiko kematian.

2. Metode

Metode penelitian ini adalah deskriptif dengan jenis penelitian Studi Perbandingan (*Comparatif Study*), hasilnya diuji menggunakan Uji *Anova*. Uji ini digunakan untuk membandingkan satu rata-rata populasi dengan satu rata-rata populasi yang lain, (Suseno Bimo, 2010).

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien malaria *falcifarum* positif yang telah diperiksa oleh Laboratorium RSUD Dr. H. Chasan Boesoerie Ternate. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah darah pasien malaria *falcifarum* positif. Besaran sampel adalah 1 sampel pasien positif malariakemudian dimultipikasi menjadi 120 sediaan darah tebal yang diwarnai dengan giemsa 3% dengan quota setiap variasi waktu sebagai berikut ;

- 1) 50 menit sebanyak 30 sediaan

- 2) 40 menit sebanyak 30 sediaan
- 3) 30 menit sebanyak 30 sediaan
- 4) 20 menit sebanyak 30 sediaan

Adapun kriteria dari sampel penelitian 1) Kriteria inklusif meliputi :

- a) Plasmodium *falcifarum* stadium trophozoit
- b) Plasmodium *falcifarum* pada sediaan darah tebal

Kriteria eksklusif meliputi:

- a) Darah pasien yang lisis
- b) Darah pasien yang telah mengalami pembekuan
- c) Plasmodium *falcifarum* dengan stadium gametosit.

3. Hasil dan Pembahasan

Data penelitian diperoleh melalui perhitungan jumlah Plasmodium *falcifarum* pada sediaan darah tebal di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Ternate yang dikumpulkan, maka data tersebut disajikan dalam tabel – tabel sebagai berikut :

Tabel 1. Perbedaan variasi lama waktu pewarnaan dengan lama pewarnaan standar 50 menit

Waktu Pewarnaan	Perbedaan Rerata	<i>p value</i>
40 menit	22.316	0.000
30 menit	22.156	0.000
20 menit	22.654	0.000

Berdasarkan data tabel 1, yang merupakan hasil Uji *Anova* diperoleh nilai $p = 0.000 < \alpha 0.005$. Hal ini menunjukkan H_0 ditolak dan H_1 diterima dengan demikian maka ada perbedaan antara lama variasi waktu pewarnaan dengan lama waktu standar 50 menit.

Pemeriksaan mikroskopis malaria dilakukan untuk menemukan parasit malaria secara visual dengan melakukan identifikasi langsung pada sediaan darah penderita. Teknik ini masih merupakan *gold standart*, sedangkan perhitungan jumlah parasit atau kepadatan parasit pada seorang penderita dilakukan untuk mengevaluasi keberhasilan pengobatan atau resistensi dari suatu jenis obat anti malaria.

Pemeriksaan darah malaria sampai saat ini masih menggunakan larutan giemsa stock yang diencerkan. Pewarnaan untuk mengdiagnosa plasmodium malaria menggunakan pewarna giemsa masih bervariasi baik konsentrasi dan

waktu pewarnaan. Pewarnaan sediaan malaria merupakan proses osmose, sehingga dibutuhkan kepekatan tertentu dari larutan giemsa. Larutan giemsa diencerkan dalam konsentrasi tertentu agar dapat mewarnai parasit malaria dalam waktu tertentu, (Suryanta, dkk, 2013).

Larutan giemsa adalah campuran dari eosin yang berwarna merah, metilen biru yang berwarna biru dan metilen azur yang berwarna ungu. Dalam pewarnaan giemsa eosin berfungsi untuk memberi warna pada eritrosit. Perpaduan antara eosin dan metilen azur berfungsi untuk memberi warna merah pada inti sel parasit dan metilen biru berfungsi untuk memberi warna pada sitoplasma sel.

Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan atau tidak jumlah parasit malaria dari setiap variasi waktu pewarnaan menggunakan konsentrasi giemsa 3%. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil analisa statistik dengan derajat kepercayaan 95% didapatkan nilai signifikan setiap variasi baik 20 menit, 30 menit dan 40 menit waktu pewarnaan dengan nilai $0.000 < 0.005$, maka hipotesa ditolak. Hal ini menunjukkan ada perbedaan antara variasi waktu pewarnaan dengan waktu standar 50 menit menggunakan konsentrasi giemsa 3%.

Yang termasuk dalam identifikasi dan dihitung jumlahnya oleh peneliti adalah stadium trophozoit. Stadium trophozoit merupakan stadium umum yang sering ditemukan, seringkali disebut sebagai stadium cincin meskipun tidak selalu terlihat berbentuk cincin yang sempurna. Trophozoit merupakan stadium pertumbuhan sehingga dapat ditemukan dalam berbagai ukuran dari kecil hingga besar. Stadium gametosit tidak dihitung dalam penelitian ini, sedangkan stadium skizon untuk *falcifarum* tidak ditemukan. Eritrosit pada sediaan darah tebal yang digunakan untuk menghitung tidak kelihatan disebabkan telah mengalami lisis, (Direktur Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan, 2011).

Dari hasil perhitungan jumlah plasmodium yang dituangkan pada tiap tabel menggambarkan terjadi perbedaan antara waktu standar dengan variasi waktu yang dibuat peneliti. Perbedaan ini terjadi dapat disebabkan oleh penyerapan plasmodium, terutama sito plasma dari Plasmodium terhadap pewarna giemsa belum maksimal atau proses lisis dari eritrosit belum sempurna, sehingga tidak nampak sebagai sito plasma yang berwarna biru pada sediaan. Bila sito plasma tidak nampak,

dan hanya inti yang berupa bulatan yang berwarna merah pasti di asumsikan sebagai endapan pewarnaan atau atrefag dan diabaikan dari perhitungan parasit.

Jumlah *Plasmodium falcifarum* yang ditemukan bervariasi pada satu variasi yang dibuat oleh peneliti, ini dapat disebabkan oleh wadah penampung sampel yang berbentuk silinder dengan diameter kurang lebih 1 cm, sehingga eritrosit pada bagian bawah tabung tidak tercampur dengan benar. Dengan tidak tercampur dengan benar antara plasma dan eritrosit, maka plasmodium yang berada dalam eritrosit akan tidak terambil.

Jumlah plasmodium yang ditemukan dibandingkan dengan jumlah leukosit atau sel darah putih yang ditemukan dan dikalikan dengan nilai leukosit normal (8000). Sediaan darah yang baik bila ditemukan 10 sampai 20 leukosit per lapangan pandang besar (LPB), namun dalam penelitian ini leukosit tidak selalu ditemukan dalam jumlah 10 sampai 20 LPB, hal ini dapat disebabkan oleh pasien tanpa disertai infeksi yang lain. Hal lain yang dapat menyebabkan jumlah leukosit tidak sesuai dengan teori disebabkan ketebalan sediaan yang tidak merata dimana proses pembuatan diakhiri pada bagian tengah.

Secara teori penggunaan darah tebal mempunyai kelebihan dimana sejumlah besar sel darah merah yang terhemolisis. Parasit yang ada terkontaminasi pada area yang lebih kecil sehingga akan lebih cepat terlihat di bawah mikroskop dan dapat menemukan parasit lebih cepat karena volume darah yang digunakan lebih banyak. Jumlah parasit lebih banyak dalam satu lapangan pandang, sehingga pada infeksi ringan lebih mudah ditemukan. Sedangkan kelemahan dari darah tebal bentuk parasit yang kurang lengkap morfologinya.

Penggunaan waktu standar 50 menit yang dianjurkan oleh WHO dan Kementerian Kesehatan yang dipakai sebagai variabel dependen dalam penelitian ini memberikan hasil yang sesuai dengan teori pemeriksaan malaria yang dikembangkan sekarang, hal ini terjadi karena dengan waktu yang relatif lama memberikan peluang untuk terjadi proses hemolisis secara sempurna dan penyerapan plasmodium terhadap pewarna giemsa lebih maksimal.

Dari data setiap tabel variasi waktu diperoleh nilai yang sangat variatif antara satu sampel dan sampel yang lain pada waktu yang sama. Hal ini dapat terjadi karena kurang homogenya sampel oleh karena tempat

penampungan sampel yang tidak terlalu lebar sehingga dimungkinkan sampel yang dipipet hanya bagian atas atau sebaliknya.

Identifikasi plasmodium pada sediaan darah tebal dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti : kualitas giemsa, lama pewarnaan, konsentrasi giemsa, keadaan mikroskop dan pembuatan sediaan. Seperti hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Suryanta dkk, diperoleh bahwa konsentrasi giemsa dan lama waktu pewarnaan berpengaruh terhadap kualitas sebuah sediaan. Kualitas sediaan yang baik akan menghasilkan hasil identifikasi yang tepat juga.

4. Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

- a. Ada perbedaan yang signifikan antara lama waktu pewarnaan standar 50 menit dengan variasi waktu 40, 30, dan 20 menit setelah data penelitian dianalisa menggunakan uji *Anova*.
- b. Hasil perhitungan jumlah plasmodium yang variatif dari tiap – tiap variasi waktu pewarnaan dapat disebabkan oleh pipetan sampel yang kurang tepat, hal ini karena tidak terlalu lebarnya wadah penampungan sampel.
- c. Plasmodium yang tidak terhitung disebabkan oleh proses lisis dari eritrosit belum sempurna, sehingga tidak nampak sebagai sitoplasma yang berwarna biru pada sediaan diabaikan dari perhitungan parasit.
- d. Hasil perhitungan jumlah leukosit yang variatif disebabkan oleh ketebalan sediaan yang tidak merata dimana proses pembuatan diakhiri pada bagian tengah.
- e. Dengan waktu yang maksimal 50 menit membuat penyerapan zat warna giemsa konsentrasi 3% dapat terserap dengan baik oleh plasmodium.

Berdasarkan kesimpulan dari penelitian ini maka perlu disarankan adalah :

- a. Untuk sarana kesehatan agar dapat menggunakan giemsa 3% dengan lama waktu pewarnaan selama 50–60 menit sebagaimana ketentuan WHO dan Kementerian Kesehatan, untuk identifikasi Plasmodium. agar mendapatkan morfologi Plasmodium *falcifarum* yang baik.
- b. Untuk sarana kesehatan agar dapat menggunakan giemsa 3% dengan lama

waktu pewarnaan selama 50–60 menit sebagaimana ketentuan WHO dan Kementerian Kesehatan, untuk membuat Sediaan Darah Tebal dengan kualitas yang baik.

- c. Menggunakan wadah penampungan sampel yang diameternya melebihi 1 cm, sehingga mempermudah pemipetan dan tidak terlalu tinggi sampel saat berada didalam wadah tersebut.
- d. Pembuatan sediaan dengan ukuran yang lebih dari 1 cm agar leukosit bisa tersebar secara merata.
- e. Untuk peneliti selanjutnya agar menggunakan jumlah parasit positif 2 (++) yang dihitung secara semikuantitatif sebagai sampel penelitian, hal ini untuk mengurangi kekeliruan dalam perhitungan jumlah *Plasmodium*.

5. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Unit Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (UPPM) Poltekkes Kemenkes Semarang yang telah menyediakan tempat untuk mempublikasikan jurnal kami.

6. Daftar Pustaka

- Arief Zaid,
<http://myoransbari.blogspot.co.id/2016/01/sop-mikroskopis-malaria.html>, diakses Agustus 2017.
- Departemen Parasitologi Medis US NAMRU-2 Jakarta, 2009, “*Buku Panduan Pelatihan Diagnosis Mikroskopi Malaria*”, Jakarta.
- Direktur Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan.2011, “*Pedoman Teknis Pemeriksaan Parsit Malaria*”, Kementerian Kesehatan, Jakarta.
- Direktur Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan.2014, “*Pedoman Teknis Pemeriksaan Malaria*”, Kementerian Kesehatan, Jakarta.
- Dr. Ayda Rahmad, MS, Sp,ParK, Drs. Purnomo, SKM, 2011, “*Atlas Diagnostik Malaria*”, EGC, Jakarta.
- Dr. Rukman Kiswari, 2014, “*Hematologi dan Tranfusi*”, Erlangga, Jakarta.
- Dyah Kusuwati,
<http://dkanalis17smg.blogspot.co.id/2016/01/v-behaviorurldefaultvmlo.html>, diakses Agustus 2017.
- Gede Wempi D.S.P, 2012, “Analisis Pemeriksaan Laboratorium Pada Penderita Malaria”, Artikel, Baturaja.
- Koes Irianto, 2009, “*Panduan Praktikum Parasitologi Dasar*”, Yrama Widya, Bandung
- Mohammad Rosvid,
<http://pgsdberbagi.blogspot.co.id/2014/01/penelitian-komparatif.html>.
- Ndaru Jati, 2014,
<http://ndarujati7.blogspot.co.id/2014/05/pewarnaan-slide-malaria.html>.
- Pinardi Hadidjaja, dkk, 2011,” *Dasar Parasit Klinik*”, FKUI, Jakarta.
- Prof. DR. dr. Pinardi Hadidjaja, MPH&TM SpParK, 2011, “*Dasar Parasitologi Klinik, Edisi Pertama*”, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta.
- Prof. DR. Dr. Sudigdo Sastroasmoro, SpA(K), 2008, “*Dasar – Dasar Metodologi Penelitian Klinis, Edisi ke 3*”, Sagung Seto, Jakarta.
- Prof. Dr. med. Mathias Freud, 2011, “*Heckner Atlas Hematologi*”, ECG, Jakarta.
- Prof. Dr. Soedarto, DTM&H,PhD, 2011,” *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran*”, Sagung Seto, Surabaya.
- Prof. Dr. Sugiyono, 2016, “*Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D, Cetakan 24*”, Alfabeta, Bandung.
- Prof. Dr. Sugiyono, 2016,” *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*” Alfabeta, Bandung.
- Staf Pengajar Departemen Parasitologi, FKUI. 2008, “*Buku Ajar Parasitologi Kedokteran, Edisi Keempat*”, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Suseno Bimo,
<http://www.statistikolahdata.com/2010/10/analisis-perbandingan.html> diakses Agustus 2017.
- Suryatna dkk, 2013, “Pengaruh Variasi Konsentrasi Giemsa Terhadap Hasil Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tipis pada Pemeriksaan *Plasmodium falcifarum*”, Yogyakarta.
- Wijaya Kusuma dkk, 2012, Pemeriksaan Mikroskopis dan Test Diagnosis Cepat Dalam Mendiagnosa Malaria, e-jurnal Udayana, Denpasar.