

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria

2.1.1 Definisi Malaria

Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh protozoa parasit yang merupakan golongan *Plasmodium*, dimana proses penularannya melalui gigitan nyamuk *Anopheles*. *Plasmodium* penyebab malaria telah dikenal sejak tahun 1753 dan 1880, *Plasmodium* penyebab malaria ditemukan oleh Laveran tahun 1883, morfologi *Plasmodium* mulai dipelajari dengan menggunakan larutan metilen biru untuk mewarnai parasit malaria tahun 1885, pada tahun 1990 Manson membuktikan bahwa nyamuk adalah vektor yang menularkan penyakit malaria. Tahun 1984-1954, siklus skizogoni praeritrositik *Plasmodium* diteliti kembali secara mendalam dan ditemukan bahwa malaria pada manusia disebabkan oleh empat spesies *Plasmodium* yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium malariae* (Sorontou Y, 2016).

2.1.2 Plasmodium Penyebab Penyakit Malaria

Penyebab penyakit malaria yaitu, suatu *protozoa* dari *genus Plasmodium*. Saat ini dikenal ada 4 jenis *Plasmodium* yang dapat menginfeksi manusia secara alami (Harijanto, 2012), yaitu:

- a. *Plasmodium falciparum*, penyebab malaria tropika yang sering menyebabkan malaria yang berat (malaria serebral dengan kematian).
- b. *Plasmodium vivax*, penyebab malaria tertiana

- c. *Plasmodium malariae*, dapat menimbulkan sindrom nefrotik dan penyebab malaria *quartana*.
- d. *Plasmodium ovale*, menyebabkan malaria *ovale*

2.1.3 Morfologi *plasmodium falciparum*

Morfologi *plasmodium falciparum* menurut Depkes RI, 2009 adalah

1. Trofozoit

- a. Bentuk cincin, koma, tanda seru lidah api.
- b. Bentuk cincin dua inti
- c. Bentuk accolé (posisi ditepi eritrosit)
- d. Morfologi : inti berwarna merah, melebar padat. Sitoplasma kebiruan, melebar. Tampak pigmen kuning kecoklatan, tampak titik maurer.

2. Skizon

Morfologi: jumlah inti lebih dari 10 (10-32) berwarna merah berukuran kecil padat. Setiap inti dikelilingi oleh sitoplasma, sitoplasma berwarna kebiruan, tebal menyertai masing-masing inti, pigmen menggumpal, warna tangguli kehitaman dan parasit tidak memenuhi seluruh eritrosit.

3. Gametosit

a. Makrogametosit

Inti berwarna merah, padat. Sitoplasma ujungnya meruncing dan berwarna biru. Pigmen disekitar inti berbentuk batang berwarna coklat kehitaman.

b. Mikrogametosit

Inti berwarna merah, menyebar. Sitoplasma berwarna biru kemerahan dan melebar. Pigmen menyebar, berbentuk batang warna coklat kehitaman. Kadang dapat ditemukan stadium gametosit muda dengan balon merah.



Gambar 2.1 *Plasmodium falciparum*

(Sumber :<http://jpfhematologiafichero.blogspot.com>)

2.1.4 Siklus Hidup Malaria

Menurut Dirjen PP&PL Kemenkes RI (2011), siklus hidup parasit malaria terdiri dari:

a. Pada nyamuk

Fase seksual terjadi pada lambung nyamuk. Segera setelah nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah penderita malaria, gametosit jantan mengeluarkan 4-8 flagel. Dengan flagel, gametosit jantan bergerak menuju ke gametosit betina dan membuahnya. Hasil fertilisasi bergerak menembus dinding lambung dan membentuk kista

sepanjang dinding lambung nyamuk. Bila kista pecah akan keluar sporozoit yang akan masuk ke kelenjar liur nyamuk dan siap menginfeksi manusia.

Rentang waktu antara masuknya gametosit sampai terbentuknya sporozoit adalah 1-2 minggu, tergantung spesies dan suhu sekitarnya.

b. Pada manusia

1. Fase hati

Bila nyamuk *Anopheles* betina yang infeksiif menggigit manusia, maka parasit malaria akan ditularkan ke orang tersebut. Parasit mengikuti sirkulasi darah dan masuk ke dalam sel hati. Dalam waktu 7-21 hari parasit akan tumbuh dan berkembang biak, sehingga memenuhi seluruh sel hati. Selanjutnya sel hati pecah dan parasit masuk ke aliran darah, menginfeksi sel darah merah. Hal ini berlaku untuk infeksi *P. Falciparum* dan *P. Malariae*. Pada infeksi *P. Vivax* dan *P. Ovale*, sejumlah parasit tetap berada dalam hati dan tidak berkembang biak (dorman). Parasit yang dorman inidapat menyebabkan kekambuhan pada pasien dengan infeksi *P. Vivax* dan *P. Ovale*.

2. Fase sel darah merah

Fase ini merupakan fase aseksual. Pada saat merozoit dalam sel hati pecah, maka akan membebaskan tropozoit yang selanjutnya menginfeksi sel darah merah. Tropozoit akan terus mengalami perkembangan menjadi skizon. Skizon akan berkembang menjadi merozoit dan pecah membebaskan tropozoit. Siklus ini akan berlanjut

sampai 3 kali. Kemudian sebagian Merozoit akan berkembang menjadi bentuk gametosit dan bila terhisap oleh nyamuk *Anopheles sp* betina siap melakukan perkembangbiakan seksual di dalam tubuh nyamuk.

2.1.5 Diagnosis Malaria

Diagnosis penyakit malaria ditegakkan sama dengan diagnosis penyakit lainnya berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Diagnosis pasti malaria harus ditegakkan dengan pemeriksaan laboratorium yaitu dengan pemeriksaan sediaan darah tipis dan darah tebal secara mikroskopik atau dengan menggunakan diagnostik cepat (Sorontou Y, 2016).

a. Anamnesis

Gejala umum malaria adalah demam lebih dari 2 (dua) hari, menggigil, serta berkeringat. Sedangkan gejala demam untuk masing-masing pasmodium memiliki perbedaan. Demam untuk *P. Falciparum* terjadi setiap hari, untuk *P. Vivax* dan *P. ovale* demamnya berselang satu hari. Sedangkan pada *P. Malariae*, demam menyerang berselang dua hari (Widoyono, 2011).

b. Pemeriksaan fisik

Suhu tubuh penderita malaria berkisar antara 37,5-40°C, serta mengalami anemia yang dibuktikan dengan konjungtiva palpebra yang pucat. Terkadang ditemukan juga *spelnomegali* (pembesaran limpa) serta *hepatomegali* (pembesaran hati). Pada malaria berat sering terjadi

penurunan kesadaran, dehidrasi, penurunan kesadaran serta gejala neurologis (Widoyono, 2011).

c. Pemeriksaan mikroskopis

Penyebab penyakit malaria adalah adanya parasit malaria yang masuk ke dalam darah. Ukuran parasit tersebut sangat kecil dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan bantuan mikroskop. Untuk dapat melihat adanya parasit di dalam darah penderita, perlu dibuat sediaan darah malaria yaitu sediaan darah tipis dan sediaan darah tebal. Selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Giemsa. Sediaan darah tipis dan sediaan darah tebal ditetesi minyak imersi dan diperiksa di bawah mikroskop menggunakan lensa objektif 100x. Jika ditemukan parasit pada pemeriksaan, maka penderita dinyatakan positif malaria. Bagaimanapun juga perlu diketahui bahwa untuk mendapatkan diagnosa pasti malaria adalah dengan melakukan pemeriksaan sediaan darah tipis dan sediaan darah tebal dengan menggunakan mikroskop. Diperlukan keterampilan yang baik dari petugas dalam memeriksa sediaan darah malaria (Dirjen PP&PL Kemenkes RI, 2011).

2.1.6 Sediaan Darah Malaria

Pemeriksaan laboratorium untuk menegakkan diagnosa penyakit malaria dapat dilakukan dengan banyak metoda. Salah satu metode yang paling diyakini dapat menemukan jenis serta stadium dari parasit Plasmodium adalah pembacaan sediaan darah malaria. Sediaan darah

malaria dapat dibuat dalam 2 bentuk, yaitu sediaan darah tipis dan sediaan darah tebal (Safar, 2009).

a. Sediaan darah tipis

Ciri-ciri apusan sediaan darah tipis yaitu lebih sedikit membutuhkan darah untuk pemeriksaan dibandingkan dengan sediaan apusan darah tebal, morfologinya lebih jelas bentuk parasit plasmodium berada di dalam eritrosit sehingga didapatkan bentuk parasit yang utuh dan morfologinya sempurna, serta lebih mudah untuk menentukan spesies dan stadium parasit dan perubahan pada eritrosit yang dihindangi parasit dapat dilihat jelas.

b. Sediaan darah tebal

Ciri-ciri apusan sediaan darah tebal yaitu membutuhkan darah lebih banyak untuk pemeriksaan dibanding dengan apusan darah tipis sehingga jumlah parasit yang ditemukan lebih banyak dalam satu lapang pandang sehingga pada infeksi ringan lebih mudah ditemukan. Sediaan ini mempunyai bentuk parasit yang kurang utuh dan kurang begitu lengkap morfologinya (Sandjaja, 2007).

2.1.7 Pewarnaan Sediaan Malaria

Untuk mempermudah pengamatan sel darah dan komponen pada sediaan apus darah tepi secara tepat, perlu dilakukan teknik pewarnaan. Teknik pewarnaan pertama kali dikenalkan oleh Romanowsky dan Malachowski pada tahun 1891, menggunakan *methylen blue* dan *eosin*. Kemudian dimodifikasi oleh Leishman, May Grunwald, Wright dan

Giemsa dengan tujuan menghasilkan pewarnaan yang lebih baik dan mudah diamati (Nugraha, G. 2017).

Faktor-faktor yang menentukan mutu pewarnaan sediaan adalah :

a. Kualitas zat warna Giemsa

Stok Giemsa tidak boleh tercemar air dan komposisinya harus terdiri dari eosin, methilen biru dan azur yang masi aktif. Parasit malaria dalam darah tidak dapat dilihat apabila bagian parasit tidak bereaksi dengan zat warna Giemsa.

b. Kualitas larutan buffer

Larutan buffer untuk pengenceran Giemsa mempunyai pH 7,1-7,2.

c. Kepekatan larutan Giemsa

Pewarnaan sediaan darah malaria adalah proses osmosis, sebab itu dibutuhkan kepekatan tertentu dari larutan giemsa dan waktu tertentu agar parasit dapat menyerap zat warna. Jika kepekatan larutan dan waktu berlebihan atau kurang, maka hasil pewarnaan kurang baik.

d. Kualitas pembuatan sediaan darah

Ketebalan dan kerekatan (fiksasi) sediaan darah tebal akan mempengaruhi kualitas pewarnaan. Fiksasi yang berat akan menghambat pewarnaan dan proses hemolisis.

e. Kebersihan sediaan darah

Endapan Giemsa dan golden scum (warna keasaman yang mengambang dipermukaan larutan giemsa) dapat tertinggal setelah proses pencucian hal tersebut akan mengotori sediaan darah. Hindari

membuang larutan giemsa terlebih dahulu sebelum dibilas dengan air dan zat warna Giemsa mengalir keluar dari kaca objek selama proses pengecatan (Yotopranoto.dkk, 2016).

2.2 Giemsa

2.2.1 Definisi Giemsa

Giemsa adalah zat warna yang terdiri dari eosin dan metil azur, yang memberi warna metilen biru pada sitoplasma dan warna merah pada inti leukosit. Zat warna tersebut dilarutkan dengan metil alkohol dan gliserin. Larutan ini dikemas dalam botol coklat berukuran 100 mL – 200mL dan dikenal sebagai Giemsa stok (Alawiyah, 2016).

Pemeriksaan parasit malaria dapat dilakukan dengan berbagai cara, yang paling sering digunakan dan merupakan standar yang ditetapkan oleh WHO adalah pewarnaan Giemsa. Keuntungan pewarnaan giemsa adalah murah, mudah dan tidak memerlukan peralatan mahal/canggih. Namun cara ini memerlukan waktu lama dan pengalaman dalam menentukan parasit. Pewarnaan Giemsa merupakan campuran eosin (warna merah muda) biru methilen dan azur methilen. Parasit malaria mempunyai berbagai stadium dalam perkembangannya, bila diwarnai dengan pewarnaan Giemsa berbagai bagian parasit akan memberi warna yang sama yaitu warna merah pada kromatin (inti) dan biru pada sitoplasma (Yotopranoto. dkk, 2016).

2.2.2 Cara Pembuatan Giemsa Stok

Giemsa stok dapat dibuat dari Giemsa bubuk dengan perbandingan komposisi berupa Giemsa bubuk 8 gram yang dicampur 500 ml metanol absolut dan 500 ml gliserin murni. Giemsa stok harus mempunyai kualitas baik dan zat warna seperti eosin, metilin biru, dan metilin azur harus masi aktif. Metanol yang telah di ukur dimasukan kedalam gelas erlenmeyer yang bersih, kering dan telah dilapisi aluminium *foil*, kemudian bubuk giemsa dimasukan secara bertahap dan diaduk dengan menggunakan pengaduk magnetik agar bubuk giemsa larut. Selama proses pengadukan berlangsung gliserin murni yang telah diukur ditambahkan kedalam erlenmeyer dan pengadukan diteruskan. Setelah itu larutan dibiarkan selama 8 jam lalu di aduk kembali hingga tercampur rata. Selanjutnya larutan disaring dengan kertas saring whatman kedalam botol yang gelap atau botol yang dilapisi aluminium *foil*. Botol diberi label tanggal pembuatan dan Giemsa stok dapat digunakan selama 3 tahun (Rahmad, A, 2015).

2.2.3 Menguji Mutu Giemsa

Menurut Dirjen PP&PL Kemenkes RI (2011), ada 2 cara menguji mutu Giemsa untuk mengetahui apakah Giemsa stok yang akan digunakan masi baik :

- a. Melaukan pewarnaan pada 1-2 sediaan, kemudian di priksa dibawah mikroskop. Kalau hasilnya sesuai kriteria standar pewarnaan yang baik berarti giemsa pengcernya masi bagus dan dapat digunakan.

Pengujian seperti ini perlu dilakukan setiap kali akan dilakukan pewarnaan masal.

- b. Melakukan tes dengan menggunakan kertas *whatman* dan methanol :
 1. Letakkan kertas saring diatas gelas atau *petri disk* supaya bagian tengah kertas tidak menyentuh sesuatu.
 2. Teteskan 1-2 tetes *giemsa stock* pada kertas saring. Tunggu sampai meresap dan menyebar.
 3. Teteskan 3-4 tetes metanol absolut di tengah bulatan giemsa perlahan dengan jarak waktu beberapa detik sampai garis tengah Giemsa menjadi 5-7 cm, maka akan terbentuk : lingkaran biru (*methilen blue*) ditengah, lingkaran cincin ungu (*methilen azur*) diluarnya, serta lingkaran tipis warna merah (*eosin*) pada bagian tepi, jika warna ungu atau merah tidak terbentuk berarti Giemsa sudah rusak dan tidak boleh dipakai lagi.

2.2.4 Pengenceran Larutan Giemsa

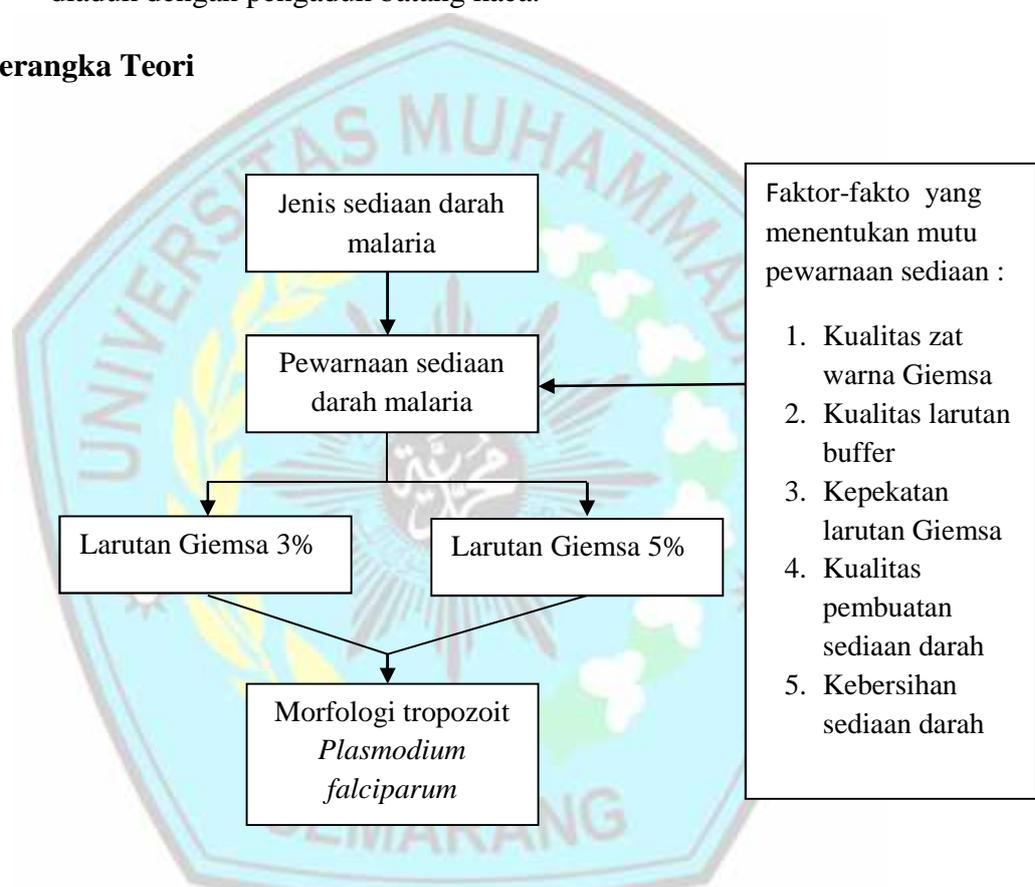
a. Pengenceran larutan giemsa 3%

Untuk membuat giemsa 3% dibutuhkan larutan Giemsa stok dan larutan buffer dengan pH atau derajat keasaman 7,2. Cara pembuatan larutan Giemsa 3% sebanyak 100 ml dilakukan dengan mencampurkan 3 ml larutan Giemsa stok dengan 97 ml larutan buffer, kemudian diaduk dengan pengaduk batang kaca (Direktur Jendral PP dan PL Kementrian Kesehatan, 2017).

b. Pengenceran larutan giemsa 5%

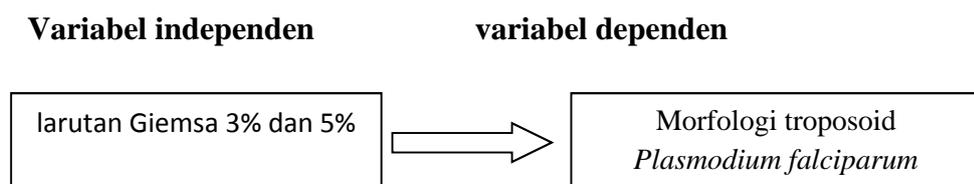
Untuk membuat giemsa 5% dibutuhkan larutan Giemsa stok dan larutan buffer dengan pH atau derajat keasaman 7,2. Cara pembuatan larutan Giemsa 5% sebanyak 10 ml dilakukan dengan mencampurkan 0,5 ml larutan Giemsa stok dengan 9,5 ml larutan buffer, kemudian diaduk dengan pengaduk batang kaca.

2.3 Kerangka Teori



Bagan 2.1 Kerangka Teori

2.4 Kerangka Konsep



Bagan 2.2 kerangka konsep

2.5 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan morfologi *Plasmodium falciparum* yang di warnai dengan pengenceran larutan Giemsa 3% dan 5%.

