

## **PENGARUH LAMA SIMPAN LARUTAN GIEMSA 3% TERHADAP KUALITAS PREPARAT MALARIA**

### *EFFECT OF 3% GIEMSA SOLUTION STORAGE TIME ON THE QUALITY OF MALARIA PREPARATIONS*

**Nurul Asmawati<sup>1</sup>, Sulaeman<sup>2</sup>, Entuy Kurniawan<sup>3</sup>, Yuliansyah Sundara Mulia<sup>4</sup>.**

1\* Program Studi Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik  
Kesehatan Kemenkes Bandung

#### **ABSTRACT**

*Microscopy is the gold standard for identifying malaria parasites with 3% Giemsa used immediately after preparation as a standard preparation stain. The aim of this study was to provide a morphological description of Plasmodium sp. When the Giemsa solution was stained for different storage times, direct use and storage changed for 1 hour, 2 hours, 3 hours, 4 hours, 5 hours, and 6 hours. This study is a type of quasi-experimental study (quasi-experimental) in which researchers compare the effects of treatment in an experimental group to a control group. Study data were analyzed using the Kruskal Wallis SPSS test followed by the Mann Whitney U test. The results obtained relate to the quality of 3% Giemsa-stained specimens stored for 1 hour and were considered good with Asymp.Sig values > 0.05, i.e. 1.00. Specimens stained with 3% Giemsa, stored for 2 hours, and showing Asymp.Sig values > 0.05, or 0.065, were concluded to be good. Specimens stained with 3% Giemsa and stored for 3 hours had Asymp.Sig values >0.05, or 0.317. Specimens stained with 3% Giemsa, stored for 4 hours, and showing Asymp.Sig values > 0.05, or 0.065, were concluded to be good. Specimens stained with 3% Giemsa and stored for 5 hours had Asymp.Sig > 0.05, or 0.145, whereas cytoplasmic and erythrocyte Asymp.Sig < 0.145. 0.05 or 0.011 was classified as bad. It was concluded that specimens stained with 3% Giemsa and stored for 6 hours at an Asymp.Sig value <0.05, ie 0.004, were unsatisfactory. We recommend using 3% Giemsa solution that is used immediately after preparation.*

*keyword:*

*Morphological description of Plasmodium sp., storage period of 3% Giemsa solution.*

## ABSTRAK

Mikroskopis merupakan standar emas untuk mengidentifikasi parasit malaria dengan Giemsa 3% yang digunakan segera setelah preparasi sebagai standar pewarnaan preparat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran morfologi Plasmodium sp. Ketika larutan Giemsa diwarnai untuk waktu penyimpanan yang berbeda, penggunaan langsung dan penyimpanan berubah menjadi 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen semu (quasi-experimental) dimana peneliti membandingkan pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol. Data penelitian dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* SPSS dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U*. Didapatkan hasil kualitas preparat yang diwarnai dengan giemsa 3% yang di simpan 1 jam nilai Asymp.Sig > 0,05 yaitu 1.00, disimpulkan baik. preparat yang di warnai dengan giemsa 3% yang di simpan 2 jam nilai Asymp.Sig > 0,05 yaitu 0,065, disimpulkan baik. preparat yang di warnai dengan giemsa 3% yang di simpan 3 jam nilai Asymp.Sig > 0,05 yaitu 0,317. preparat yang di warnai dengan giemsa 3% yang di simpan 4 jam nilai Asymp.Sig > 0,05 yaitu 0,065, disimpulkan baik. preparat yang di warnai dengan giemsa 3% yang di simpan 5 jam nilai Asymp.Sig > 0,05 yaitu 0,145 namun pada sitoplasma dan eritositnya mendapat nilai Asymp.Sig < 0,05 yaitu 0,011 disimpulkan tidak baik. preparat yang di warnai dengan giemsa 3% yang di simpan 6 jam nilai Asymp.Sig < 0,05 yaitu 0,004, disimpulkan tidak baik. Disarankan untuk menggunakan larutan Giemsa 3% yang digunakan segera setelah persiapan.

kata kunci:

Gambaran morfologi Plasmodium sp., masa penyimpanan larutan Giemsa 3%.

## PENDAHULUAN

Malaria tetap menjadi masalah kesehatan masyarakat yang berpotensi mematikan. Salah satu teknik diagnostik malaria yang paling dapat diandalkan adalah mikroskop. Mikroskopi malaria adalah standar emas untuk deteksi malaria.

Deteksi parasit malaria dapat dilakukan dengan apusan darah kental, dan identifikasi bentuk parasit dapat dilakukan dengan apusan darah tipis. Pewarnaan apusan darah tipis memberikan pandangan yang lebih jelas dari bagian yang relatif lengkap.

Pewarnaan Giemsa merupakan teknik pewarnaan yang paling baik dan banyak digunakan untuk mengidentifikasi parasit dalam darah (Depkes RI, 2011).

SPO (Prosedur Operasi Standar), langkah-langkah dari persiapan produk darah (SD) hingga pembuatan, pewarnaan, dan pengujian, harus dipatuhi. Memperhatikan hal-hal tersebut berdampak besar pada hasil akhir pemeriksaan sediaan darah. Tujuannya adalah untuk menetapkan diagnosis mikroskopis malaria sebagai tolak ukur untuk menentukan spesies parasit malaria secara andal untuk pengobatan yang cepat dan akurat.

Saat pewarnaan, penting untuk memperhatikan umur simpan larutan Giemsa yang digunakan untuk pewarnaan. Campuran Giemsa yang telah disiapkan harus segera digunakan dan tidak boleh disimpan atau digunakan lebih dari 1 jam. (Kementerian Kesehatan, 2017).

## METODE

Jenis Penelitian Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen semu dengan menggunakan rancangan perbandingan kelompok statis. Peneliti membandingkan efek pengobatan pada kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol. Giemsa 3% langsung digunakan sebagai kontrol dan dibandingkan pewarnaan dengan Giemsa 3% yang disimpan beberapa kali: 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam. Survei dilakukan di Kota Jayapura pada Maret 2023.

Pengolahan data dilakukan dengan membuat tabel-tabel data yang dikodekan sesuai dengan analisis yang dibutuhkan. Proses ini membutuhkan ketelitian agar terhindar dari kesalahan. Data yang dihasilkan dianalisis dengan Statistical Products and Services Solution (SPSS) versi 20 menggunakan uji hipotesis *Kruskal Wallis dan Man-U-Withney*.

## HASIL

Hasil penilaian pewarnaan preparat malaria meliputi penilaian secara mikroskopik, kriteria preparat yang baik secara mikroskopik dinilai dari warna sehingga menghasilkan data sebanyak 126, dimana hasil yang diperoleh di rata ratakan sebagai berikut :

Tabel 1. Rerata hasil pengamatan

Pewarnaan giemsa 3%	Skor 3 (baik)	Skor 2 (kurang Baik)	Skor 1 (Tidak baik)
Langsung	16	2	0
1 jam	16	2	0
2 jam	16	2	0
3 jam	13	5	0
4 jam	9	9	0
5 jam	10	8	0
6 jam	9	9	0
Total	89	37	0

Berdasarkan tabel 1. Dari hasil pengamatan pada preparat diperoleh skor Giemsa yang langsung digunakan ada 16 preparat yang baik dan 2 preparat yang kurang baik, pada Giemsa yang

digunakan setelah 1 jam ada 16 preparat yang baik dan 2 yang kurang baik, pada Giemsa yang digunakan setelah 2 jam ada 16 preparat yang dan 2 preparat yang kurang baik, pada Giemsa yang digunakan setelah 3 jam ada 13 preparat yang baik dan 5 preparat yang kurang baik, pada Giemsa yang digunakan setelah 4 jam ada 9 preparat yang baik dan 9 preparat yang kurang baik, pada Giemsa yang digunakan setelah 5 jam ada 10 preparat yang baik dan 8 preparat yang kurang baik, pada Giemsa yang digunakan setelah 6 jam ada 9 preparat yang baik dan 9 preparat yang kurang baik.

Setelah dilakukan penelitian dan diperoleh data selanjutnya di analisis dengan uji Kruskal wallis untuk menilai perbedaan inti /kromatindan sitoplasma dengan lama simpan giemsa langsung (sebagai preparat kontrol), 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam.

Tabel 2. Uji *kruskal wallis Plasmodium falciparum*

	<i>inti</i>	<i>Sitoplasma</i>	<i>eritrosit</i>
<i>Chi-Square</i>	13.778	13.778	13.778
<i>Df</i>	6	6	6
<i>Asymp.Sig</i>	.032	.032	.032

Tabel 3. Uji *kruskal wallis Plasmodium vivax*

	<i>inti</i>	<i>Sitoplasma</i>	<i>eritrosit</i>
<i>Chi-Square</i>	16.189	15.632	18.064
<i>Df</i>	6	6	6
<i>Asymp.Sig</i>	.036	.016	.006

Dari tabel uji statistik di atas diperoleh nilai *Asymp.Sig* < 0,05 yaitu 0,032 pada *plasmodium falciparum* dan 0,016 pada *plasmodium vivax*. Dasar keputusan uji Kruskal Wallis jika nilai *Asymp.Sig* < 0,05

maka ada perbedaan kualitas preparat malaria antara giemsa 3% yang langsung digunakan dengan yang di simpan 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam. Untuk melihat perbedaan antara larutan giemsa 3% yang digunakan langsung (kontrol) dengan yang di gunakan setelah 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam maka peneliti melakukan analisis data dengan *Mann U Whitney*

Tabel 4. Uji *Mann U-Whitney Plasmodium vivax*

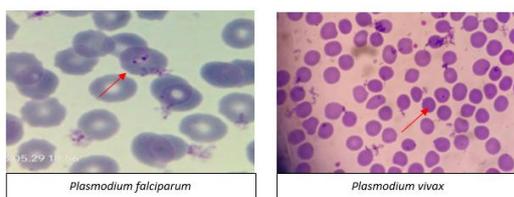
Perlakuan	Nilai Asymp.Sig		
	Inti/ kromatin	sitoplasma	Eritrosit
1 jam	1.000	0.004	1.000
2 jam	0.065	0.065	0.065
3 jam	0.317	0.317	0.317
4 jam	0.065	0.065	0.065
5 Jam	0.145	0.011	0.011
6 jam	0.004	0.004	0.004

Dari tabel uji statistik di atas diperoleh nilai Asymp.Sig < 0,05 yaitu pada giemsa 1 jam, 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Namun nilai Asymp.Sig sitoplasma pada preparat 1 jam mendapatkan nilai < 0,05 yang berarti ada perbedaan kualitas , Sedangkan nilai Asymp.Sig > 0,05 pada giemsa 5 jam dan 6 jam.

sitoplasma, inti dan eritrosit.Total keseluruhan preparat yang dibuat adalah 42 preparat dan di nilai oleh 3 orang panelis

Hasil penelitian pewarnaan preparat malaria

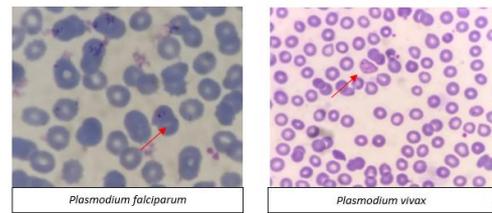
Dengan pembesaran 100x



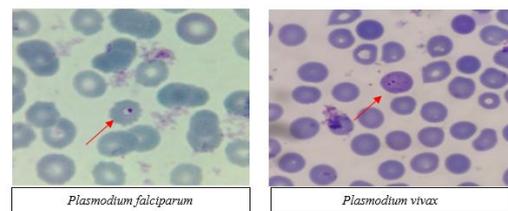
Tabel 3. Uji *Mann U-Whitney Plasmodium falciparum*

Perlakuan	Nilai Asymp.Sig		
	Inti/ kromatin	sitoplasma	Eritrosit
1 jam	1.000	0.065	1.000
2 jam	0.065	0.065	0.065
3 jam	0.317	0.317	0.317
4 Jam	0.065	0.065	0.065
5 Jam	0.145	0.011	0.011
6 jam	0.004	0.004	0.004

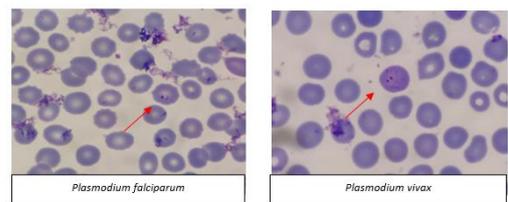
Pewarnaan dengan Giemsa yang langsung digunakan sesaat setelah dibuat



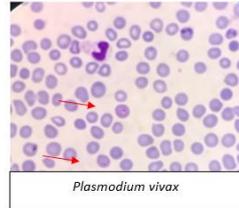
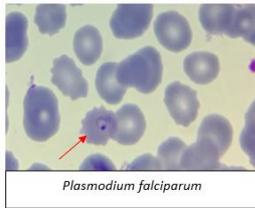
Pewarnaan dengan giemsa yang digunakan setelah 1 jam



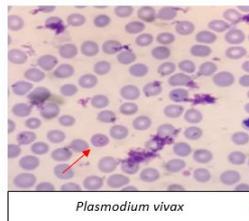
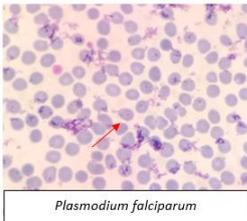
Pewarnaan dengan Giemsa yang langsung digunakan setelah 2 jam



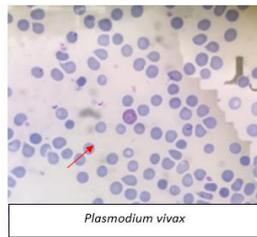
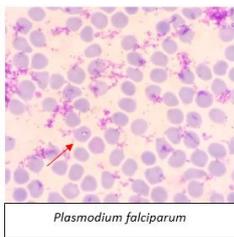
Pewarnaan dengan Giemsa yang langsung digunakan setelah 3 jam



Pewarnaan dengan Giemsa yang langsung digunakan setelah 4 jam



Pewarnaan dengan Giemsa yang langsung digunakan setelah 5 jam



Pewarnaan dengan Giemsa yang langsung digunakan setelah 6 jam

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, setelah pengamatan dan evaluasi mikroskopis apusan darah, inti/kromatin, sitoplasma, dan eritrosit, diperoleh hasil kualitas pewarnaan dengan pewarnaan Giemsa 3% yang digunakan segera setelah 1 jam, 2 jam, dan 3 jam. diputuskan. , 4, 5 dan 6 jam tidak memenuhi beberapa kriteria pewarnaan. Hasil mikroskopi buruk karena sebagian besar kriteria pewarnaan tidak memenuhi persyaratan, seperti warna eritrosit dan parasit malaria tidak tertangkap dengan baik. Ini mungkin karena penundaan yang signifikan dalam pengujian sampel

penelitian, kualitas cat Giemsa, dan pH pengencer.

Evaluasi pewarnaan preparat malaria meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Kriteria untuk menilai apusan darah kotor yang baik adalah penampilan bentuk sediaan yang tampak jelas. Keterangan warna untuk produk darah adalah kombinasi merah, ungu dan biru. Sebaliknya, secara mikroskopis, ia dinilai dengan latar belakang transparan berwarna biru pucat atau merah pucat. Sel darah merah berwarna kontras dan jernih, dan sebagian besar sel darah putih terlihat jelas tanpa partikel Giemsa. Pada pemeriksaan stadium trofozoit parasit *Plasmodium* sp kromatin berwarna merah dan sitoplasma berwarna biru (Suryanta 2012).

Teknik pewarnaan sering digunakan untuk mempelajari morfologi sel darah dan sumsum tulang serta untuk mengidentifikasi parasit darah, seperti berdasarkan jenis parasit. Larutan stok terlebih dahulu harus diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,2 sebelum digunakan untuk pewarnaan Giemsa. Buffer fosfat dikenal sebagai buffer untuk menjaga pH elemen. Spesimen harus terlebih dahulu difiksasi dengan metanol anhidrat sebelum pewarnaan. Ini membantu apusan darah tepi menempel sehingga tidak lepas dan menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan (struktur) sel. Fiksasi ini memungkinkan apusan darah menyerap warna secara optimal.

Lakukan pemeriksa kualitas dan tanggal kedaluwarsa dari solusi Giemsa yang akan di gunakan. Giemsa yang terdegradasi atau rusak tidak memancarkan warna merah, ungu, atau keduanya. Oleh karena itu, ketika mengamati parasit pada apusan darah malaria, tidak mungkin untuk menentukan apakah beberapa bentuk parasit tidak bereaksi dengan pewarna Giemsa. Pemantauan kinerja reagen disebut kontrol kualitas (QC). Diagnosis malaria yang akurat membutuhkan

apusan darah dengan larutan stok Giemsa berkualitas tinggi dan pengencer buffer pH 7,2. Pewarnaan Giemsa sangat dipengaruhi oleh pH, dengan pH rendah sel darah merah tampak merah dan pH tinggi sel darah merah tampak biru, abu-abu hingga ungu tua. Semakin asam pH, semakin kuat warna inti/kromatin dan semakin lemah warna sitoplasma; sebaliknya, semakin basa pH, semakin terang warna inti/kromatin dan semakin banyak warna sitoplasma. Menjadi lebih kuat. Sebelum digunakan, larutkan buffer fosfat pH 7,2 (buffer tablet) dalam 1 liter air suling, simpan pada suhu 2-8°C, dan periksa kembali pH buffer fosfat sebelum digunakan (Piero I Oliaro, 2015). Campuran giemsa tidak dapat disimpan lebih dari 24 jam (Gandasoebrata, 2010)

Identifikasi parasit malaria pada apusan darah dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain:

Kualitas Giemsa, waktu pewarnaan, konsentrasi Giemsa, kondisi mikroskop, penyiapan spesimen. Hasil penelitian Suryanta et al. menunjukkan bahwa konsentrasi Giemsa dan waktu pewarnaan mempengaruhi kualitas

spesimen. Kualitas preparat yang baik juga diterjemahkan menjadi hasil identifikasi yang akurat. Apusan darah harus diwarnai sesegera mungkin setelah persiapan. Menyimpan slide yang tidak ternoda dalam kondisi panas dan lembab selama beberapa hari akan secara otomatis memperbaikinya.

Peralatan yang digunakan untuk menyiapkan Giemsa stain harus bersih. Gelas ukur, pipet, bejana pengumpul dan gelas kimia harus bersih dan kering sebelum digunakan. Pewarnaan formulasi dengan instrumen yang kotor tidak akan memberikan hasil yang memuaskan.

Instrumen yang digunakan untuk pewarnaan Giemsa harus segera dibilas dengan air bersih setelah digunakan untuk menghilangkan kotoran sebanyak mungkin. Setelah itu, harus direndam sebentar dalam larutan deterjen sebelum dicuci. Peralatan dapat dicuci dengan deterjen ringan asalkan dapat dibilas secara menyeluruh dengan air bersih sebelum dikeringkan. Deterjen yang tertinggal di piring kaca dan plastik dapat mengubah pH air dan pewarna, membuat noda semakin parah saat piring digunakan lagi (WHO, 2016).

## **SIMPULAN**

Dari analisis data yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna preparat malaria yang di warnai dengan larutan giemsa yang langsung di warnai sesaat setelah dibuat dengan preparat malaria yang diwarnai dengan larutan giemsa yang digunakan setelah disimpan 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, dan 6 jam.

## **DAFTAR RUJUKAN**

1. Departemen Kesehatan RI. (2011). Pedoman Teknis Pemeriksaan parasite Malaria. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
2. Direktorat Jendral P2P. (2017) Pedoman Teknis Pemeriksaan Malaria. Jakarta: Kementerian Kesehatan
3. Gandasoebrata, R (2016). Penuntun Laboratorium Klinik, Dian Rukyati Jakarta
4. Nugraha, G (2017). Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta
5. Piero L Oliaro, A.R (2015). Methods Manual. Microscopy For The detection, Identification and Quantification of

- Malaria Paracites On Stained Thick and Thin Blood Film In Research Setting. Geneva : WHO
6. Rony P (2017). Studi Perbandingan Jumlah Parasit Malaria Menggunakan Variasi Waktu.
  7. Pewarnaan pada Konsentrasi Giemsa 3% di Laboratorium RSUD Dr. H. Chasan Boesoirie.
  8. Sri W, Misbahul H. (2021). Pengaruh Konsentrasi dan Waktu pengecatan Giemsa pada pemeriksaan mikroskopik Malaria. Poltekkes Tanjungkarang.
  9. Suryanta. S. E (2012). Pengaruh konsentrasi Giemsa Terhadap Hasil Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tipis Pada Pemeriksaan Plasmodium sp. Jurnal dosen Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
  10. Yotopranoto dkk 2016 Atlas Parasitologi kedokteran. Jakarta EGC.
  11. Zulkoni. (2011). Parasitologi. Yogyakarta : Nuha Medika.