

ANALISIS PERBANDINGAN WAKTU PEWARNAAN MENGUNAKAN GIEMSA 10% TERHADAP HASIL SEDIAAN DARAH MALARIA

*Comparative Analysis of Staining Time Using Giemsa 10%
on the results of Malaria blood preparations*

**Ruth Sophia Hassor^{1*}, Yuliansyah Sundara Mulia^{2*}, M. Firman Solihat^{3*},
Sulaeman^{4*}**

^{1*} Program Studi Sarjana Terapan, jurusan Teknologi Laboratorium Medis,
Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung
Email : ruthhassor5@gmail.com

ABSTRACT

The results of the staining of malaria blood samples included microscopic assessment. The criteria for good blood smears were microscopically assessed from the background, leukocyte color, cytoplasm, nucleus and erythrocyte color. The aim of this study was to look at the comparison of staining time using Giemsa 10% to the results of malaria blood preparations. The method used in this study was a quantitative experiment and was analyzed qualitatively using statistical data analysis. The sample used was the total population of Plasmodium malaria samples which were compared at three different times. The sample used in this study was the blood of malaria sufferers. Blood samples of ;2 µl, thin blood and 6µL thick blood were smeared for staining using 10% Giemsa dye and carried out for 15 replications at different times of 15, 20 and 30 minutes. The results showed that microscopic examination of malaria staining using 10% Giemsa dye at 15 minutes showed that there were 8 good and 7 bad preparations. at 20 minutes all preparations had good criteria, and at 30 minutes there were 8 good preparations and 7 bad preparations. Statistical test results using the Kruskal-Wallis test obtained a significant value of 0.022 (<0.05). From the results of the study it can be concluded that there is an effect of variation in staining time using 10% Giemsa on the results of malaria blood preparations, and a good time for staining with 10% Giemsa is 20 minutes.

Key words: 10% Giemsa stain, staining time

ABSTRAK

Penelitian tentang pemeriksaan malaria secara mikroskopik terhadap parameter waktu dengan menggunakan pewarna giemsa 10%. Hasil penilaian pewarnaan sediaan darah malaria meliputi penilaian secara mikroskopik, kriteria sediaan darah yang baik secara mikroskopik dinilai dari latar belakang, warna lekosit, sitoplasma, inti dan warna eritrosit. Tujuan penelitian ini adalah melihat perbandingan waktu pewarnaan menggunakan giemsa 10% terhadap hasil sediaan darah malaria. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen kuantitatif dan di analisis secara kualitatif menggunakan analisis data statistik. Sampel yang digunakan adalah total Populasi sampel Plasmodium malaria yang dilakukan perbandingan dalam tiga waktu yang berbeda. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah penderita malaria. Sediaan darah sebanyak ;2 µl, darah tipis dan 6µL darah tebal dibuat apus untuk pewarnaan menggunakan pewarna giemsa 10% dan dilakukan untuk 15 replikasi pada waktu yang berbeda yaitu 15,20 dan 30 menit. Hasil penelitian menunjukkan

bahwa pemeriksaan mikroskopik pewarnaan malaria menggunakan pewarna giemsa 10% pada waktu 15 menit menunjukkan terdapat 8 sediaan yang baik dan 7 tidak baik. pada waktu 20 menit semua sediaan memiliki kriteria baik, dan pada waktu 30 menit terdapat 8 sediaan yang baik dan 7 sediaan tidak baik. Hasil uji statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis didapatkan nilai signifikan 0,022 ($<0,05$). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh variasi waktu pewarnaan menggunakan giemsa 10% terhadap hasil sediaan darah malaria, dan waktu yang baik untuk pewarnaan dengan giemsa 10% adalah 20 menit.

Kata kunci: Pewarnaan Giemsa, Waktu Pewarnaan

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan parasit plasmodium ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk anopheles betina. Malaria penyakit tropis yang sulit diberantas sehingga masih endemik di berbagai negara tropis, termasuk Indonesia. Dalam penelitiannya dengan melakukan identifikasi langsung pada dinyatakan bahwa malaria disebabkan oleh sediaan darah penderita. Pemeriksaan mikroskopis organisme protista.¹

WHO memperkirakan 3,3 miliar orang berisiko terinfeksi malaria di tahun 2006. Sekitar 247 juta orang mengalami infeksi klinis malaria, dan hampir 1 orang juta meninggal karena penyakit ini.⁷

Terapi dan diagnosis malaria berdasarkan klinis saja kurang dipercaya dan sebaiknya didukung oleh tes laboratorium. Tes yang digunakan untuk diagnosis malaria adalah pemeriksaan mikroskop hapusan darah tipis dan hapusan darah tebal serta tes diagnosis cepat. Pemeriksaan mikroskop hapusan darah masih menjadi *gold standar* untuk diagnosis malaria. Hapusan darah dapat memberikan informasi ada tidaknya parasit malaria, menentukan spesiesnya.²

Penyebab gagalnya upaya pengendalian malaria. Kegagalan diagnosis adalah salah satunya. Kegagalan diagnosis dapat dimulai di tingkat desa atau puskesmas atau

bahkan di rumah sakit ketika dilakukan pemeriksaan mikroskopis untuk mengetahui apakah ada parasit malaria dalam sediaan darah yang dibuat. Kesalahan diagnosis malaria dapat disebabkan oleh berbagai praktik pemeriksaan mikroskopis yang buruk, seperti pembuatan apusan darah (SD) yang tidak memadai, pewarnaan yang tidak memenuhi standar, melakukan pemeriksaan mikroskopis menggunakan jenis mikroskop dengan iradiasi yang tidak memadai, pembesaran yang tidak memadai, dan mikroskop yang kotor, rusak, atau tidak terawat, serta melakukan pemeriksaan pada waktu yang tidak tepat.

Sejumlah tes laboratorium, termasuk pemeriksaan mikroskopis, *buffy coat* kuantitatif, reaksi berantai polimerase (PCR), dan tes diagnostik cepat (RDT), dapat digunakan untuk mengidentifikasi malaria. *Fluorochrome acridine* orange digunakan sebagai pewarna dalam Malaria Quantitative Buffy Coat Test agar parasit dapat dilihat di bawah mikroskop fluoresensi. Parasit yang terdapat pada apusan darah dan lapisan eritrosit (*buffy coat*) dari sampel darah yang disentrifugasi dapat dilihat dan dihitung di bawah mikroskop menggunakan pewarnaan ini. Karena kurangnya teknologi sentrifugasi dan kebutuhan modifikasi mikroskop di fasilitas laboratorium setempat, metode ini masih relatif mahal di banyak lokasi.³

Apusan darah tipis sering digunakan sebagai metode untuk menemukan parasit malaria karena morfologi Plasmodium setelah pengecatan paling baik dilihat dengan bagian yang relatif lengkap. Metode pewarnaan terbaik adalah pewarnaan Giemsa, yang sering digunakan untuk mendeteksi parasit dalam darah.⁴

Prinsip Romanowsky adalah dasar dari prinsip pewarnaan Giemsa., dengan prinsip kimiawi dari sel. Pewarnaan ini digunakan untuk pewarnaan asam nukleat dan diagnosis histopatologi malaria dan parasit lainnya. Giemsa Stain adalah jenis noda Romanowsky yang digunakan secara universal untuk pewarnaan sel darah.

Wantini melaporkan bahwa konsentrasi pewarnaan darah malaria yang terbaik adalah 9% dengan waktu 20 menit. Penelitian lain melaporkan bahwa untuk menghasilkan pewarnaan darah malaria yang baik dan menghasilkan visualisasi yang baik secara mikroskopik dapat dilakukan pada konsentrasi giemsa 10 % dengan waktu 30 menit.^{3,5}

Rumah Sakit Umum Abepura adalah salah satu pusat kesehatan masyarakat di kota Jayapura yang melayani pemeriksaan darah malaria bagi pasien yang terserang malaria. Tingginya permintaan pemeriksaan laboratorium bagi penderita malaria melatarbelakangi penelitian ini dengan tantangan bahwa dibutuhkan waktu yang singkat dengan hasil yang akurat untuk digunakan sebagai dasar dalam pengobatan.

Berdasarkan informasi diatas maka perlu diakukan penelitian tentang variasi waktu yang tepat dalam pemeriksaan darah malaria menggunakan pewarna giemsa 10 %.

METODE

Jenis penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *Pra Eksperiman* dengan desain *One Shot Case Study*. Penelitian ini akan

dilakukan di laboratorium RSUD Abepura Jayapura Populasi dalam penelitian ini adalah 15 sampel darah yang mengandung Plasmodium Malaria. Sampel dalam penelitian ini adalah total Populasi sampel Plasmodium malaria yang dilakukan perbandingan dalam tiga waktu yang berbeda. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah penderita malaria.

Prosedur Pemeriksaan sampel darah malaria dengan pewarna giemsa 10 % menggunakan standar petunjuk teknis pemeriksaan malaria oleh Departemen kesehatan.

Data di olah dengan uji Kruskal Wallis, data penelitian dimasukkan melalui uji statistik untuk melihat apakah ada perbedaan waktu penggunaan Giemsa 10% pada sediaan darah malaria. Uji statistik non parametrik ini disebut uji Kruskal-Wallis dapat digunakan untuk menentukan apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independen dan variabel dependen.

Pembuatan sediaan darah ditetaskan 1 tetes darah (2 µl) dibagian tengah objek glass untuk sediaan darah tipis dan teteskan 3 tetes darah (6µL) dibagian ujung untuk sediaan darah tebal, selanjutnya Diletakkan objek glass yang berisi teteskan darah diatas meja atau permukaan yang rata.Dibuat sediaan darah tipis ambil objek glass (objek glass kedua), lalu ditempelkan ujungnya pada tetes darah kecil sampai darah menyebar.dengan sudut 45° geser objek glass tersebut dengan cepat berlawanan dengan tetes darah tebal sehingga didapat sediaan apus (seperti bentuk lidah).Prosdur ini dilakukan untuk pengamatan sebanyak 15 replikasi untuk variasi waktu 15,20 dan 30 menit.

Penelitian sudah diajukan permohonan kaji etik kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Poltekkes Kemenkes Jayapura dengan No. 150/KEPK-J/VI/2023

HASIL

Hasil penilaian pewarnaan sediaan darah malaria meliputi penilaian secara mikroskopik, kriteria sediaan darah yang baik secara mikroskopik dinilai dari latar belakang, warna sitoplasma, dan inti. Unsur-unsur dan skor yang dinilai dari hasil pewarnaan sediaan darah dapat dilihat dalam Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Unsur-Unsur Dan Skor

SKOR	Hasil Pewarnaan		
	LATAR BELAKANG	SITOPLASMA	INTI
1	Jernih dan biru/kemerahan	Biru	Merah
0	Tidak jernih dan biru/kemerahan	Tidak berwarna (tidak biru)	Tidak berwarna (tidak merah)

Hasil penilaian pewarnaan sediaan darah malaria yang dilakukan terhadap lima belas sampel darah penderita malaria yang mengandung plasmodium. Latar belakang, warna sitoplasma, dan nukleus digunakan sebagai evaluasi kriteria apusan darah yang sehat secara mikroskopis. Tabel 3.2 di bawah berisi hasil pengujian.

Tabel 3.2. Skor Penilaian Hasil Pewarnaan

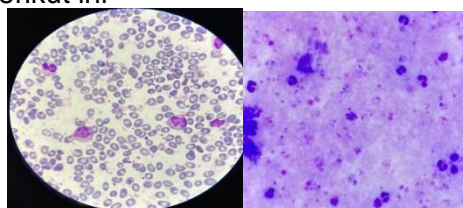
No	Replikasi	Skor Penilaian Hasil Pewarnaan Sediaan Darah		
		15 menit	20 menit	30 menit
1	I	1	1	1
2	II	1	1	1
3	III	0	1	1
4	IV	0	1	1
5	V	1	1	0
6	VI	1	1	0
7	VII	0	1	0
8	VIII	1	1	0
9	IX	1	1	0
10	X	1	1	1
11	XI	0	1	1
12	XII	1	1	1
13	XIII	0	1	1
14	XIV	0	1	0

PEMBAHASAN

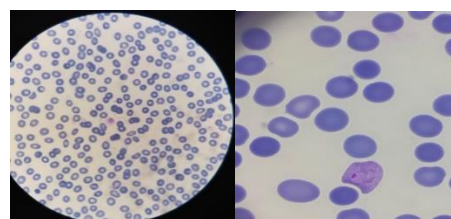
Berdasarkan hasil pewarnaan pada Tabel 3.1 dapat dilihat bahwa waktu 20

menit menunjukkan hasil pewarnaan yang baik dengan nilai skor 1 untuk semua replikasi jika dibandingkan dengan waktu pewarnaan 15 dan 30 menit. Karena pada waktu tersebut menunjukkan latar belakang dari semua sediaan darah terlihat jernih, partikel giemsa yang terdapat pada sediaan sangat sedikit dan pada beberapa replikasi tidak ditemukan partikel giemsa, kejelasan warna leukosit baik. Pada waktu 20 menit ini plasmodium menyerap zat warna dengan baik dengan ditunjukkan pada warna plasmodium yang berwarna biru dan inti berwarna merah, sedangkan pada waktu 15 menit dan 30 menit banyak sediaan yang menunjukkan hasil mikroskopik yang tidak baik.

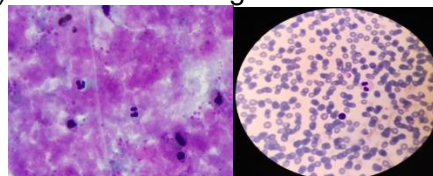
Hasil pemeriksaan darah dengan variasi waktu pewarnaan giemsa 10 % yakni 15 menit, 20 menit dan 30 menit dapat dilihat pada gambar berikut ini



(a). Pewarnaan dengan waktu 15 Menit



(b). Pewarnaan dengan waktu 20 Menit



(c) Pewarnaan dengan waktu 30 Menit

Menurut Hidayah, unsur-unsur berikut diperlukan untuk membuat dan mewarnai sediaan darah yang baik: Trombosit berwarna ungu muda dan merah muda, sitoplasma limfosit

berwarna biru pucat, sitoplasma monosit berwarna biru, butiran eosinofil berwarna jingga, dan latar belakang sediaan bening dan tampak biru pucat. Inti leukosit berwarna ungu, trombosit berwarna ungu muda dan merah muda, sisa eritrosit muda berwarna biru atau biru muda, dan sitoplasma limfosit berwarna biru.

Berdasarkan Gambar 3.1 dapat dilihat bahwa perbedaan konsentrasi sampel apusan atau sediaan darah akan mempengaruhi sensitifitas dan interaksi antara sampel dan pewarna giemsa 10 % . Dalam permasalahan ini dapat dilihat juga bahwa waktu interaksi antara sediaan darah dan pewarna giemsa 10% juga berpengaruh.

Jika dilihat pada gambar a (waktu 15 menit) menunjukkan bahwa dari 8 sediaan menunjukkan latar belakang yang kurang jernih karena adanya sisa-sisa cat dan adapun latar belakang yang berwarna merah menyeluruh, ada warna dari leukositnya menunjukkan warna merah ada sebagian yang menunjukkan warna biru, warna dari plasmodium dan intinya berwarna sama yaitu kemerahan, adapun yang tidak memiliki sitoplasma dikarenakan waktu yang terlalu singkat sehingga parasit tidak menyerap zat warna dengan baik sehingga sulit menentukan adanya parasit, dan eritrositnya berwarna merah

Sedangkan 8 preparat dinyatakan memiliki kriteria baik karena bening, berwarna kemerahan, dan kriteria baik. yang bening dan biru pucat, warna plasmodiumnya bening, yang meliputi warna sitoplasma, nukleus, dan eritrosit, sehingga akurat untuk mendeteksi parasit.

Sedangkan pada gambar c (waktu 30 menit) tersebut menunjukkan latar belakang yang tidak jernih, ada yang warnanya terlalu biru adapun yang terlalu merah terlihat seperti warna yang menumpuk sehingga sulit untuk melihat adanya parasit, adapun warna dari leukosit menunjukkan warna biru tua

hampir kehitaman, warna dari plasmodium yaitu inti dan sitoplasma berwarna merah tua adapun sitoplasma yang berwarna ungu mengikuti warna latar belakang dari sediaan, dan pada replikasi lain sitoplasma tak terlihat dikarenakan cat warna yang terlalu tebal dan warna eritrositnya merah adapun yang menunjukkan warna biru, sedangkan 7 sediaan yang memiliki kriteria baik warna latar belakang kemerahan/biru pucat, leukosit berwarna ungu, inti berwarna merah, sitoplasma berwarna biru. Berdasarkan penjelasan diatas maka dapat dikatakan bahwa waktu terbaik pewarnaan giemsa 10% pada sediaan darah yang mengandung plasmodium adalah waktu 20 menit, dan hal ini didukung dengan data pada tabel 3.1

Berikut ditampilkan hasil penilaian pewarnaan dalam kategori yang ditampilkan dalam Tabel 3.2 berikut.

**Tabel 3.2 Hasil Penilaian Pewarnaan
Dalam Kategori**

No	Replikasi	Skor Penilaian Hasil		
		Pewarnaan Darah	Sediaan Darah	Sediaan Darah
		15 Menit	20 Menit	30 Menit
1	Baik	8	15	8
2	Tidak baik	7	0	7

Kemampuan mengerjakan pemeriksaan mikroskopik dapat berkurang apabila tidak dipertahankan atau ditingkatkan dalam waktu tertentu. Seperti pada kasus ini didapatkan bahwa interval waktu yang kecil maupun besar akan mempengaruhi interaksi antara pewarna dan asam nukleat dari plasmodium. Waktu 20 menit menunjukkan prosen interaksi pewarna dan asam nukleat plasmodium sangat baik.

Untuk memvalidasi data hasil penelilian perbandingan waktu

penggunaan pewarna giemsa 10% terhadap sediaan darah malaria maka dilakukan analisis data menggunakan aplikasi SPSS dengan uji *Kruskal Wallis*.

Uji *Kruskal-Wallis*

Berikut adalah hasil uji *Kruskal Wallis* untuk data hasil penelitian perbandingan waktu dalam penggunaan pewarna giemsa 10 % terhadap sediaan darah malaria.

waktu(menit)	N	Mean Rank
skor(nilai) 15 menit	15	11,50
20 menit	15	19,00
30 menit	15	11,50
Total	45	

Kruskal-Wallis H	7,647
Df	2
Asymp. Sig.	,022

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: waktu(menit)

Berdasarkan data hasil pengujian menggunakan uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai Asymp Sig adalah 0,022 nilai ini diketahui kurang dari batas kritis yakni ± 0.05 , jika nilai *Asymp Sig* lebih besar 0,05 maka dinyatakan tidak ada pengaruh. Dari hasil uji didapatkan nilai *Asymp Sig* yaitu 0,022 yang artinya nilai dari *Asymp Sig* lebih kecil dari 0,05 yang menunjukkan adanya pengaruh variasi waktu pewarnaan menggunakan giemsa 10% terhadap hasil sediaan darah malaria. Dalam studi literatur menyatakan hasil pewarnaan sediaan menggunakan waktu yang tidak sesuai akan memberikan hasil yang kurang baik.⁶Jika berpatokan pada konsep ini maka dapat dikatakan bahwa Pewarnaan dengan giemsa 10% dengan waktu yang ditentukan adalah 20 menit, sehingga saat dilakukan pewarnaan sel-sel eritrosit dan plasmodium tidak menyerap dengan

baik zat warna tersebut, begitupun sebaliknya jika waktu pewarnaan terlalu lama akan membuat sediaan kelebihan zat warna, sehingga mengakibatkan pewarnaan yang sangat tebal seperti kotoran yang mengganggu pada waktu pemeriksaan mikroskopik akibatnya hasil pewarnaan tidak baik.

SIMPULAN

Berdasarkan data penelitian dapat disimpulkan bahwa waktu terbaik untuk pewarnaan sampel darah malaria adalah 20 menit dengan label mikroskopis, yang menunjukkan latar belakang yang jelas dan warna kemerahan, berbeda dengan warna biru pucat dan bening, warna Plasmodiumnya juga bening, yaitu meliputi warna sitoplasmanya yang biru, dan nukleusnya merah serta warna eritrositnya merah, sehingga tepat dalam menemukan parasit.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Direktur Rumah Sakit Umum Daerah Abepura atas ijin penelitian yang telah diberikan kepada peneliti.

DAFTAR RUJUKAN

1. Wempi I Gede, d.S.P. 2012. *Analisis pemeriksaan laboratorium pada penderita 1 malaria*. Jurnal Balaba Vol. 8, No. 02, Des 2012 : 58-59
2. Wijaya Kusuma, A.A, Et All, 2020. *Pemeriksaan mikroskop dan tes diagnostik cepat dalammenegakkan diagnosis malaria*. Bagian/SMF Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/ Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar
3. Sriwantini, 2021 “ *Pengaruh konsentrasi dan Waktu Pengecatan Giemsa pada Pemeriksaan*



- Mikroskopik Malaria.* Jurnal Analisis Kesehatan Vol.10.No.1 Juni 2021.
4. Sari Nurmila Ayu dan Masrillah (2019). “*Morfologi sel darah pada apusan darah tepi (sadt) menggunakan*
 5. Putri.A.Mega (2019)” *pengaruh variasi waktu pewarnaan menggunakan giemsa 10% terhadap hasil sediaan darah malaria.* Laporan Karya Tulis ilmiah program studi analisis kesehatan politeknik kesehatan kemenkes kupang
 - pewarnaan alternatif ekstrak kol ungu (Brassica oleracea L)* Prosiding Seminar Nasional Biotik ISBN: 978-602-70648-3-6
 6. Irianto, Koes. (2013). Mikobiologi Jilid I. Bandung : Yrama Widya
 7. WHO, (2020). World Malaria Report 2017. Geneva.