

Studi Evaluasi Kualitas Penggunaan Pewarna Giemsa Pada Pemeriksaan Mikroskopis Malaria di Laboratorium Fasilitas Layanan Kesehatan Kota Jayapura Tahun 2023

Evaluation Study of the Quality of the Use of Giemsa Dye in Malaria Microscopic Examination in the Laboratory of Health Service Facilities in the City of Jayapura in 2023

Risda Hartati¹, Fajar Bakti Kurniawan², Dwi Setiani³, Asrianto⁴

^{1,2,3,4} Jurusan Teknologi Laboratorium Medis,
Politeknik Kesehatan Kemenkes Jayapura, Indonesia
*(Korespondensi e-mail: risdahartati@gmail.com)

Kata kunci: Giemsa, Laboratorium, Kualitas

Keywords: *Giemsa, Laboratory, Quality*

Poltekkes Kemenkes Kendari, Indonesia

ISSN : 2085-0840

ISSN-e : 2622-5905

Periodicity: Bianual vol. 16 no. 2 2024

jurnaldanhakcipta@poltekkes-kdi.ac.id

Received : 04 November 2023

Accepted : 19 Juli 2024

Funding Funding source: Poltekkes Jayapura

DOI : <https://doi.org/10.36990/hijp.v16i2.1237>

URL : <https://myjurnal.poltekkes-kdi.ac.id/index.php/HIJP>

Contract number: -

Ringkasan: Latar belakang: Pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Giemsa tetap menjadi standar emas diagnosis malaria. Kualitas pewarnaan Giemsa bervariasi antarprodusen sehingga berkontribusi terhadap kesalahan diagnosis dan variabilitas hasil antarlaboratorium.

Tujuan: Mengevaluasi kualitas penggunaan pewarna Giemsa pada pemeriksaan mikroskopis malaria di laboratorium fasilitas layanan kesehatan Kota Jayapura.

Metode: Penelitian deskriptif cross-sectional pada 20 laboratorium menggunakan teknik purposive sampling. Pengumpulan data dilakukan melalui kuesioner manajemen pewarnaan Giemsa dan uji kualitas dengan metode kertas saring Whatman No.2. **Hasil:** Manajemen pewarnaan menunjukkan 45% memperoleh Giemsa dari toko kesehatan, 90% menggunakan air mineral sebagai pengencer, 85% tidak menyaring larutan, dan 55% tidak melakukan quality control. Uji kertas saring menunjukkan 65% terdapat lingkaran biru methylene blue, 75% lingkaran ungu methylene azur, dan 55% lingkaran merah eosin. **Simpulan:** Sebanyak 60% laboratorium telah menangani Giemsa dengan baik. **Saran:** Standardisasi prosedur pewarnaan sesuai pedoman Kementerian Kesehatan untuk mengoptimalkan diagnosis malaria.

Abstract: Background: Microscopic examination with Giemsa staining remains the gold standard for malaria diagnosis. Giemsa staining quality varies between manufacturers, contributing to misdiagnosis and variability of results between laboratories.

Objective: To evaluate the quality of the use of Giemsa dye in microscopic examination of malaria in the laboratory of health service facilities in Jayapura City. **Methods:** Cross-sectional descriptive research in 20 laboratories used purposive sampling technique. Data collection was carried out through the Giemsa staining management questionnaire and quality test using the Whatman No.2 filter paper method. **Results:** Staining management showed that 45% obtained Giemsa from health stores, 90% used mineral water as a diluent,

85% did not filter the solution, and 55% did not perform quality control. The filter paper test showed that 65% of methylene blue circles were present, 75% of methylene azure purple circles, and 55% of eosin red circles. **Conclusion:** As many as 60% of

laboratories have handled Giemsa well. **Suggestion:** Standardization of staining procedures according to Ministry of Health guidelines to optimize malaria diagnosis.

PENDAHULUAN

Metode diagnosis cepat dan akurat merupakan landasan dalam pengobatan dan strategi pengendalian penyakit malaria. Metode mikroskopis dengan menggunakan mikroskop cahaya yang dilakukan pada hapusan darah tepi sampai saat ini masih tetap menjadi standar acuan dalam mendiagnosis malaria (Wilson, 2013). Pemeriksaan malaria metode mikroskopis dapat memberikan berbagai keuntungan diantaranya yaitu dapat membedakan spesies dan bentuk stadium parasit malaria beserta kuantifikasi parasit dalam darah tepi (Dang, Saraf, Khanna, Gupta, & Sheikh, 2020), namun pemeriksaan metode mikroskopis tentulah tidak mudah untuk dapat dilakukan oleh semua orang dalam hal ini infrastruktur laboratorium dan sumber daya untuk menjamin kualitas hasil pemeriksaan terutama pada daerah endemis malaria (Wilson, 2013).

Berbagai macam standarisasi sering dilakukan namun masih terhambat pada banyaknya variabilitas dalam kualitas dan prosedur untuk persiapan slide dan pewarnaan, serta perbedaan jumlah bidang hapusan darah tebal yang diperiksa dengan jumlah sel darah putih yang dihitung untuk dapat mendeteksi atau mengukur parasit dalam darah (parasitemia) yang menyebabkan variasi perbedaan yang cukup besar dalam metode mikroskopis (Das et al., 2021). Metode mikroskopis dengan menggunakan hapusan darah telah menjadi standar diagnosis malaria sejak diperkenalkannya larutan pewarnaan Giemsa pada tahun 1904. Stabilitas Giemsa dan kualitas pewarnaan yang persisten, dapat mewarnai berbagai macam granula leukosit dan dapat dibedakan dengan baik sehingga membuat Giemsa menjadi paling banyak digunakan sebagai pewarna rutin untuk menggambarkan elemen darah dalam hapusan darah tepi dibandingkan dengan pewarna lain seperti Field, Leishman, Romanowsky atau Wright stain (Fleischer, 2004).

Beberapa penelitian mengemukakan bahwa kualitas pewarnaan Giemsa di pasaran sangat berkontribusi terhadap kesalahan diagnosis malaria dan variabilitas hasil antar laboratorium dilaporkan berbeda dalam mendiagnosis malaria (Organization, 2016). Kualitas hasil pemeriksaan mikroskopis membutuhkan pewarnaan yang berkualitas untuk hapusan darah yang baik (Organization, 2016). Berbagai fasilitas layanan kesehatan laboratorium pemerintah maupun swasta di Kota Jayapura mendapatkan serbuk stok Giemsa atau larutan stok Giemsa yang sudah siap pakai tersedia di laboratorium, namun Giemsa yang diperoleh dari berbagai pemasaran produsen yang berbeda sehingga kualitas dan kinerja dari Giemsa sangat bervariasi.

METODE

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dengan desain *cross sectional*.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium pada Dinas Kesehatan Kota Jayapura yaitu (Park & Kwon, 2023) laboratorium Puskesmas Kota Jayapura dan Laboratorium Klinik milik pemerintah maupun swasta. Waktu penelitian pada Bulan Juli-Oktobre 2023.

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian adalah Fasilitas Pelayanan Kesehatan Laboratorium Pemerintah dan Laboratorium Klinik Swasta yang melaksanakan pemeriksaan mikroskopis malaria, yang ada di Kota Jayapura yang berjumlah 41 layanan laboratorium. Sampel dalam penelitian ini sebanyak dua puluh 20 laboratorium yang dilakukan dengan teknik secara *purposive sampling*. yaitu sebanyak 20 laboratorium klinik dengan rincian jumlah yaitu laboratorium Puskesmas Kota Jayapura sebanyak 10, laboratorium Rumah Sakit Pemerintah sebanyak 4, laboratorium rumah sakit swasta 2, laboratorium klinik swasta sebanyak 4.

Pengumpulan Data

Daftar pertanyaan diberikan kepada tenaga mikroskopis yang ikut berpartisipasi untuk mendapatkan data demografis dan informasi tentang praktik sehari-hari baik mengenai pengadaan, pengencer yang digunakan untuk pemeriksaan rutin dan penyimpanan giemsa. Slide hasil pewarnaan setiap laboratorium dikumpulkan untuk mengamati kualitas slide baik itu karakteristik sel darah putih serta morfologi parasit malaria. Uji kualitas Giemsa juga dilakukan dengan meneteskan larutan Giemsa stok 1-2 tetes di atas kertas saring Whatman No 2 pada bagian tengah, dibiarkan meresap dan menyebar, ditetaskan methanol absolut 3-4 tetes, pembacaan hasil pada bagian pinggir luar terdapat lingkaran tipis berwarna merah (eosin), berwarna ungu (metilin Azur) dan berwarna biru (metilin blue).

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data dilakukan secara deskriptif yaitu data manajemen penanganan Giemsa dan kualitas Giemsa dengan metode kertas saring.

HASIL

Hasil penggunaan persiapan larutan kerja giemsa yang diambil dari larutan stok untuk identifikasi parasit malaria dapat dilihat pada Tabel 2 yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Sumber dan Cara Penanganan Giemsa

Variabel	Jumlah	Presentase
Pasokan Giemsa Stok		
Toko bahan kesehatan	9	45
Suplier	5	25
Vendor	6	30
Jenis Giemsa Stok		
Serbuk	0	0
Larutan	20	100
Merk Giemsa Stok		
Merck	1	5
One Care	4	20

Merck KGaA	2	10
Sigma-Aldrich	5	25
Mikrorom Stain	1	5
OneMed	7	35
Penyimpanan Giemsa		
Botol gelap bahan kaca	13	65
Botol gelap bahan plastic	5	25
Lemari/Rak	2	5
Frekuensi membuka Giemsa Stok		
Selalu	12	60
Sesekali	6	30
Jarang	2	10
Tidak pernah	0	0
Frekuensi Menutup Giemsa Stok		
Selalu	18	90
Sesekali	2	10

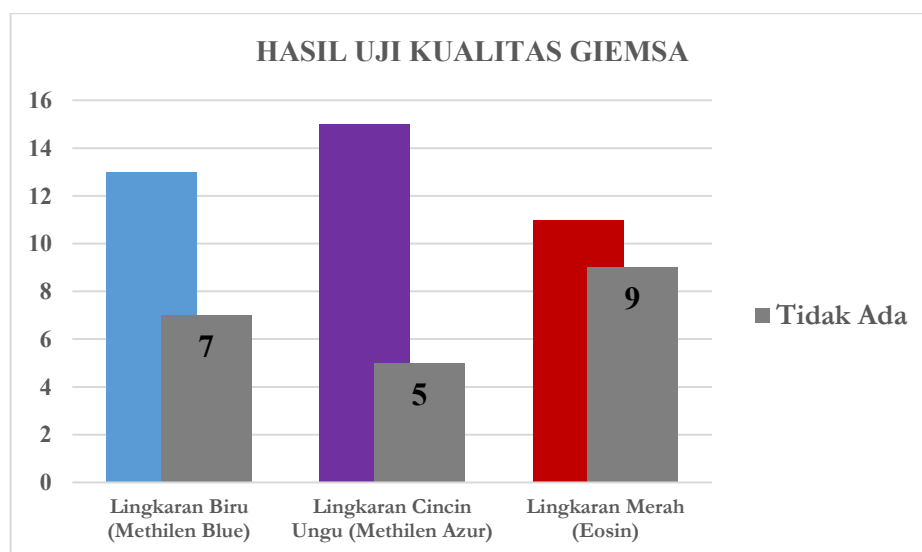
Hasil penelitian pada Tabel 1 untuk kategori cara penanganan Giemsa dan sumbernya sebagian besar laboratorium mendapatkan pasokan Giemsa dari toko bahan kesehatan sebesar 45%, dengan bentuk serbuk dan larutan. Penggunaan Giemsa stok dengan merek Sigma-Aldrich paling banyak digunakan yaitu 25%. Sarana penyimpanan sudah cukup baik yaitu diletakkan pada botol kaca berwarna gelap 65% dan frekuensi membuka dan menutup Botol penyimpanan yaitu dengan kategori selalu dilakukan. Membuka dan menutup botol tempat penyimpanan larutan Giemsa stok sering dilakukan apabila jumlah pasien yang melakukan pemeriksaan malaria terjadi peningkatan. Frekuensi membuka dan menutup yang dilakukan dalam sehari layanan dilakukan antara 1-3 kali perlakuan. Apabila jumlah pemeriksaan dalam waktu sehari pada masing-masing layanan laboratorium cukup bervariasi antara 10-25 pasien dalam setiap harinya. Terdapat 2 layanan laboratorium yang hanya sesekali dalam membuka dan menutup botol penyimpanan Giemsa stok dikarenakan kurangnya jumlah pasien pada layanan laboratorium tersebut.

Tabel 2. Persiapan Larutan Kerja Giemsa

Variabel	Jumlah	Presentase
Penggunaan larutan pengencer		
Larutan Buffer	0	0
Aquadest	2	10
Air Keran	0	0
Air Mineral	18	90
Frekuensi penyaring larutan		
Tidak pernah	17	85
Sesekali	2	10
Selalu	1	5
Frekuensi Persiapan Larutan		
15 Menit sebelum digunakan	7	35
30 Menit sebelum digunakan	0	0
3 Jam sebelum digunakan	0	0
6 jam sebelum digunakan	0	0
1 kali untuk pemakaian sehari	13	65
Frekuensi Quality Control Larutan		
Tidak Pernah	11	55

Sesekali	5	25
Selalu	4	20
Larutan Pembilas Setelah Pewarnaan		
Air Kran	11	55
Air Penampungan	7	35
Air Mineral	2	10
Aquadest	0	0
Kepuasan Hasil Pewarnaan		
Selalu	7	35
Sesekali	13	65

Hasil penelitian untuk kategori manajemen Giemsa stok menunjukkan bahwa sebagian besar laboratorium mendapatkan gimesa stok dari toko alat dan bahan kesehatan sebesar 45%, dalam bentuk larutan/cair stok 100%, rata-rata petugas laboratorium belum mengetahui merek asal dari Giemsa stock yang mereka dapatkan pada semua layanan laboratorium. Manajemen Giemsa stok Pengadaan serbuk giemsa jarang sekali dilakukan oleh karena memerlukan banyak bahan tambahan atau komponen bahan seperti methanol dan gliserol yang ditambahkan untuk menjadi larutan stok sehingga memilih pembelian praktis dalam bentuk larutan. Persentase penyimpanan persediaan giemsa pada botol gelap berbahan kaca yaitu sebesar 65% dan menjawab selalu membuka botol sebesar 60% dan menutup botol giemsa dengan rapat 90%. Proses penyimpanan giemsa stok beberapa laboratorium bervariasi yaitu 65% disimpan pada botol berbahan gelas kaca, 25% disimpan pada bahan plastik yang berwarna gelap dan sekitar 5% disimpan dalam lemari dengan botol plastik yang ada di tiap laboratorium.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitas Giemsa

Dari hasil uji kualitas Giemsa pada Gambar 1 menunjukkan dari 20 fasilitas laboratorium yang dilakukan uji kualitas Giemsa terdapat berbagai macam variasi untuk uji kertas saring pada larutan Giemsa stok yaitu terdapat lingkaran biru pada kertas saring sebanyak 13 (65%) dan 7(35%) tidak terdapat lingkaran biru pada kertas saring uji, kemudian sebanyak 15(75%) terdapat lingkaran cincin ungu untuk zat warna methilen Azur dan 5(25%) tidak terdapat lingkaran ungu pada kertas saring uji. Sebanyak 11(55%) larutan Giemsa stok hasil uji kertas saring terdapat lingkaran merah yang menunjukkan adanya zat eosin yang masih baik dan 9(45%) tidak terlihat adanya zat eosin sehingga dapat memberikan pengaruh pada larutan Giemsa stok belum mampu untuk memberikan warna yang

baik pada inti sel parasit maupun sel darah. Manajemen Giemsa stok yang ada di layanan laboratorium di Kota Jayapura sebanyak 12 (60%) telah melaksanakan proses penanganan dan persiapan larutan pewarnaan dengan baik dan 40% dengan kategori belum baik.

PEMBAHASAN

Penelitian kami dapat dilihat pada Tabel 2 bahwa Sebagian besar laboratorium dilaporkan menggunakan air mineral sebagai sumber larutan pengencer untuk pembuatan larutan kerja Giemsa (90%) dan hanya 10% yang menggunakan aquadest serta dilaporkan juga tidak pernah menggunakan larutan buffer (pH 7,2) dalam proses pewarnaan. Penggunaan air mineral sebagai larutan pengencer pada sebagian besar laboratorium dengan alasan bahwa larutan buffer yang diperlukan sulit didapatkan oleh tenaga laboran, walaupun bahan tersebut didapatkan dengan harga yang cukup mahal sehingga beberapa layanan laboratorium memutuskan untuk menggunakan air mineral dengan pH 7,2. Penggunaan air keran menghasilkan jumlah parasite yang lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan air suling/aquadest yang diberi buffer (Oktiyani, Muhlisin, Roebiakto, Norsiah, & Mahpolah, 2023) (Oktiyani et al., 2023). Penggunaan buffer pada air suling terbukti penting untuk pewarnaan (Park & Kwon, 2023) yang baik dan berkualitas karena dapat menghasilkan pewarnaan pada parasit baik itu bagian morfologi inti dan sitoplasma dari parasit malaria (Kudisthalert, Pasupa, & Tongsima, 2020). Pewarnaan giemsa sangat dipengaruhi oleh jenis larutan pengencer. Pengencer Giemsa mempunyai keadaan seperti adanya buffer yang bersifat isotonic dengan pH 6,8-7,0 (Diarti, Tatontos, & Turmuji, 2016). Beberapa komponen Giemsa terdiri dari Azur B (Trimethyl thionine) berperan dalam mewarnai komponen sel yang bersifat asam, dan Eosin memiliki peran dalam mewarnai komponen yang bersifat basa, seperti inti sel, granula leukosit serta kombinasi dari eosin dan Azur B memberikan warna ungu pada sel (Muflihah et al., 2022).

Berbagai macam pewarnaan differensial telah dikembangkan untuk dapat membantu dalam deteksi parasit malaria (Jemere, Melaku, Jemeber, & Abate, 2018), namun pewarnaan Romanowsky yang mampu mewarnai dengan baik bagian nukleus/inti parasite menjadi merah dan sitoplasma berwarna biru yang telah banyak terbukti dan paling mudah beradaptasi sehingga menjadi andalan dalam pekerjaan rutin sehari-hari (Organization, 2016). Pewarnaan Giemsa berbahan dasar alkohol adalah standar baku emas, dengan cara ini paling umum dapat digunakan sehingga diagnosis rutin terbaik untuk membuat hapusan darah baik tebal maupun hapusan darah tipis, sifatnya yang sangat stabil baik itu dalam proses penyimpanan dan menghasilkan kualitas pewarnaan yang sangat konstan. Kualitas yang terjamin dari pewarna ini menjadikan harga di pasaran dengan kategori mahal sehingga banyak layanan laboratorium yang mengabaikannya sehingga menjadikan pilihan pewarna rutin untuk diagnostik. Oleh karena mementingkan dan memastikan adanya kualitas yang baik sehingga serbuk Giemsa harus dibeli dari distributor dengan reputasi terbaik dan terpercaya dengan larutan stok harus disiapkan dalam batch yang dapat dikontrol kualitasnya dan didistribusikan sendiri kepada pengguna fasilitas layanan laboratorium. Salah satu faktor penting dalam pewarnaan adalah pH larutan pewarna dan air yang digunakan untuk mencuci pada saat pewarnaan. Pengukuran pH yang sederhana harus tersedia disemua layanan laboratorium diagnostic malaria, karena kertas pH tidak cukup akurat untuk mengukur pH air dan buffer. Perbedaan pH yang kecil saja misalkan antara pH 7,0 dan pH 7,2 atau pH 6,5 dan pH 7,0 dapat menjadi faktor yang mempengaruhi kualitas pewarna Giemsa secara signifikan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Manajemen penanganan pewarna Giemsa memerlukan beberapa langkah penting untuk memastikan kualitas pewarnaan dan keamanan penggunaan, seperti proses penyimpanan, persiapan larutan, prosedur pewarnaan serta proses pencucian dan pengeringan dengan mengikuti langkah langkah ini, pewarnaan Giemsa dapat dilakukan dengan aman dan efektif, sehingga dapat memberikan hasil yang optimal untuk analisis mikroskopis yang dapat membantu diagnosis penyakit malaria di Kota Jayapura. Diharapkan dalam penanganan larutan Giemsa sebelum dilakukan pada pewarnaan agar mengikuti standar operasional prosedur yang telah ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan sehingga proses pewarnaan plasmodium dapat maksimal memberikan hasil yang baik dalam membantu diagnosis malaria.

REKOMENDASI

Penelitian selanjutnya perlu mengintegrasikan analisis morfologi parasit dan kualitas hapusan darah yang telah diwarnai. Evaluasi komprehensif mencakup penilaian karakteristik pewarnaan inti parasit, sitoplasma, dan elemen darah lainnya diperlukan untuk mengkorelasikan kualitas pewarna dengan akurasi diagnostik. Pengembangan scoring system untuk menilai kualitas morfologi parasit berdasarkan intensitas warna dan kejelasan struktur akan memberikan validasi objektif terhadap efektivitas pewarnaan Giemsa.

PERNYATAAN

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kami ucapkan kepada Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Poltekkes Kemenkes Jayapura dalam memfasilitasi kami melalui penelitian tahun 2023. Kami juga mengucapkan terimakasih Kepada Dinas Kesehatan Kota Jayapura dan seluruh tenaga mikroskopis malaria yang terlibat dalam kegiatan penelitian.

Pendanaan

Pendanaan kegiatan penelitian ini bersumber pada dana DIPA Poltekkes Kemenkes Jayapura Tahun Anggaran 2023.

Kontribusi Setiap Penulis

Risda Hartati : Writing – original draft
Fajar Bakti Kurniawan, Asrianto : Writing – review & editing
Dwi Setiani : Data curation

Pernyataan Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

DAFTAR PUSTAKA

- Dang, N., Saraf, V., Khanna, A., Gupta, D., & Sheikh, T. H. (2020). *Malaria Detection on Giemsa-Stained Blood Smears Using Deep Learning and Feature Extraction*. Paper presented at the International Conference on Innovative Computing and Communications: Proceedings of ICICC 2019, Volume 1.
- Das, D., Dahal, P., Dhorda, M., Citarella, B. W., Kennon, K., Stepniewska, K., . . . Guerin, P. J. (2021). A systematic literature review of microscopy methods reported in malaria clinical trials. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(3), 836.
- Diarti, M. W., Tatontos, E. Y., & Turmuji, A. (2016). Larutan Pengencer Alternatif NaCl 0, 9% Dalam Pengecatan Giemsa Pada Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa. *Jurnal Kesehatan Prima*, 10(2), 1709-1716.
- Fleischer, B. (2004). 100 years ago: Giemsa's solution for staining of plasmodia. *Tropical Medicine and International Health*, 9(7), 755-756.
- Jemere, K. A., Melaku, M. Y., Jemeber, T. H., & Abate, M. A. (2018). Performance evaluation of laboratory professionals on malaria microscopy at health facilities in Bahir Dar city administration, Northwest Ethiopia. *PLoS One*, 13(10), e0203420. doi:10.1371/journal.pone.0203420
- Kudisthalert, W., Pasupa, K., & Tongsimma, S. (2020). Counting and classification of malarial parasite from giemsa-stained thin film images. *IEEE Access*, 8, 78663-78682.
- Muflihah, A. I., Destiawan, R. A., Wijaya, A. F., Sari, L. Y. W., Sufi, Q. N., & Camelia, L. (2022). The Effect of Differences Time On The Macroscopic Picture Of Giemsa Staining Using Aquades Diluent. *Jurnal EduHealth*, 13(02), 1217-1221.
- Oktiyani, N., Muhlisin, A., Roebiakto, E., Norsiah, W., & Mahpolah, M. (2023). Utilization of alternative buffer solutions for staining thin blood smears by the Giemsa, Wright stain and Romanowsky method. *Tropical Health and Medical Research*, 5(1).
- Organization, W. H. (2016). *Malaria microscopy quality assurance manual-version 2*: World Health Organization.
- Park, C.-H., & Kwon, H. (2023). Quality Assessment of Wright-Giemsa Staining in Digital Cell Imaging. *Journal of Laboratory Medicine and Quality Assurance*, 45(1), 18-24.
- Wilson, M. L. (2013). Laboratory diagnosis of malaria: conventional and rapid diagnostic methods. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 137(6), 805-811.