



Universitas
Alma Ata
The Globe Inspiring University

FKIK
S1 Kedokteran

PANDUAN PEMERIKSAAN APUSAN DARAH TEBAL DAN TIPIS UNTUK DIAGNOSIS MALARIA

Anandita Winadira | Hanson | Dian WP
Widhowati DS | Almarissa AP | Chandra TD

**PANDUAN PEMERIKSAAN APUSAN DARAH TEBAL DAN TIPIS
UNTUK DIAGNOSIS MALARIA**



Disusun Oleh:

dr. Anandita Winadira, M.Biomed.

dr. Hanson, M.Biomed.

dr. Dian W.P., M.Biomed.

dr. Widhowati D.S., M.Biomed.

dr. Almarissa A.P., Sp.MK

dr. Chandra T.D., Sp.PK

Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Program Studi Kedokteran
Universitas Alma Ata

2026

DAFTAR ISI

COVER.....	i
2026DAFTAR ISI	i
ABSTRAK	iii
I. PENDAHULUAN	1
II. TUJUAN PEMBELAJARAN	2
III. DASAR TEORI	2
IV. ALAT DAN BAHAN	3
V. PROSEDUR PEMERIKSAAN	4
A. Uji kelayakan Giemsa.....	4
B. Pembuatan Larutan Kerja Giemsa 3% Segar.....	4
C. Pembuatan Apusan Darah Tebal.....	4
D. Pembuatan apusan darah tipis.....	5
VI. PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS	5
A. Pembacaan Hasil Pemeriksaan Apusan Darah Tebal.....	5
B. Pembacaan Hasil Pemeriksaan Apusan Darah Tipis.....	6
VII. INTERPRETASI HASIL	7
VIII. KESALAHAN UMUM DAN <i>TROUBLESHOOTING</i>	9
A. Apusan darah terlalu tebal atau terlalu tipis	9
B. Sediaan tebal terlepas saat pewarnaan.....	9
C. Pewarnaan terlalu pucat atau terlalu gelap	9
D. Banyak artefak atau presipitasi pewarna	10
E. Parasit tidak ditemukan padahal klinis kuat	10
F. Kesulitan membedakan morfologi parasit	10
G. Minyak imersi mencemari preparat tebal	11
IX. KESELAMATAN KERJA LABORATORIUM.....	11
DAFTAR PUSTAKA	13

ABSTRAK

Diagnosis malaria tidak cukup ditegakkan berdasarkan pemeriksaan fisik semata, melainkan memerlukan dukungan pemeriksaan penunjang, dengan pemeriksaan apusan darah tebal dan tipis sebagai standar emas untuk konfirmasi diagnosis. Panduan ini disusun sebagai bahan pembelajaran dan acuan praktis bagi mahasiswa, tenaga laboratorium, dan pendidik dalam melakukan prosedur pemeriksaan malaria secara sistematis dan benar. Isi panduan meliputi prinsip dasar pemeriksaan, persiapan alat dan bahan, prosedur pembuatan apusan darah tebal dan tipis, teknik pewarnaan, metode pembacaan mikroskopis, interpretasi hasil, serta aspek keselamatan kerja di laboratorium. Selain itu, disajikan pula korelasi klinis dan kesalahan umum yang sering terjadi untuk meningkatkan ketepatan diagnostik dan pemahaman konseptual. Diharapkan panduan ini dapat mendukung proses pembelajaran berbasis praktik serta meningkatkan kompetensi dalam deteksi dini dan penatalaksanaan malaria.

I. PENDAHULUAN

Penyakit malaria tetap menjadi ancaman mematikan di wilayah tropis dan subtropis. Walaupun angka kasus baru, tingkat keparahan, dan angka kematian telah menurun drastis selama dua puluh tahun terakhir, data WHO (2022) menunjukkan bahwa pada tahun 2021 masih tercatat 247 juta kasus dengan total kematian mencapai 619.000 jiwa secara global (Pandey *et al.*, 2023). Malaria merupakan penyakit tular vektor yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium*. Parasit ini masuk ke tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina (Nosten *et al.*, 2022). Manifestasi klinis malaria dapat bervariasi, mulai dari gejala ringan seperti demam dan menggigil hingga komplikasi berat yang dapat mengancam jiwa, sehingga penegakan diagnosis yang tepat dan cepat sangat diperlukan.

Diagnosis malaria tidak dapat ditegakkan hanya berdasarkan pemeriksaan klinis, karena gejalanya seringkali tidak spesifik dan dapat menyerupai penyakit infeksi lainnya. Oleh karena itu, diperlukan pemeriksaan penunjang untuk memastikan keberadaan parasit dalam darah. Pemeriksaan apusan darah tebal dan tipis secara mikroskopis telah lama dikenal sebagai standar emas dalam diagnosis malaria karena mampu mendeteksi keberadaan parasit sekaligus membantu identifikasi spesies dan tingkat parasitemia.

Dalam kegiatan pendidikan kedokteran dan pelatihan laboratorium, pemahaman yang baik mengenai teknik pembuatan preparat, proses pewarnaan, serta interpretasi hasil pemeriksaan sangat penting untuk menunjang kompetensi dalam diagnosis malaria. Namun demikian, kesalahan teknis dalam pembuatan apusan maupun pembacaan preparat masih sering terjadi apabila tidak didukung oleh panduan yang sistematis dan mudah dipahami.

Panduan ini disusun untuk memberikan acuan yang komprehensif mengenai prosedur pemeriksaan apusan darah tebal dan tipis, mulai dari prinsip dasar, persiapan alat dan bahan, langkah kerja, hingga interpretasi

hasil dan aspek keselamatan kerja. Diharapkan panduan ini dapat mendukung proses pembelajaran berbasis praktik, meningkatkan keterampilan teknis, serta membantu dalam penegakan diagnosis malaria secara akurat dan tepat.

II. TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip pemeriksaan malaria.
2. Mahasiswa mampu membuat apusan darah tebal dan tipis dengan teknik yang benar.
3. Mahasiswa mampu mengidentifikasi morfologi *Plasmodium* pada preparat darah.
4. Mahasiswa mampu menghitung densitas parasit dan menentukan tingkat parasitemia secara akurat berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis.

III. DASAR TEORI

Malaria merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh parasit genus *Plasmodium* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Saat ini diketahui terdapat 5 spesies yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium knowlesi* (WHO, 2013). Seluruh hidup spesies *Plasmodium* yang menginfeksi manusia dihabiskan di dua inang yaitu di dalam nyamuk *Anopheles* betina untuk melakukan fase seksual (*sporogony*) dan di dalam manusia untuk melakukan fase aseksual (*schizogony*). Malaria dikenal dengan pola demam periodik yang khas. Siklus ini bertepatan dengan siklus intraeritrosit parasit yang bervariasi sesuai dengan spesies parasit (Varo *et al.*, 2021).

Malaria ringan menimbulkan gejala tidak khas. Gejala infeksi malaria ringan meliputi demam, malaise, menggigil, berkeringat, kelelahan, artralgia, mialgia, serta nyeri kepala. Malaria berat didefinisikan dengan adanya *Plasmodium* dalam darah perifer yang terkonfirmasi secara klinis atau laboratoris dan disertai dengan disfungsi organ vital yang parah (Idro *et al.*, 2016).

Diagnosis malaria membutuhkan pendekatan komprehensif karena gejala klinis malaria sering kali tidak spesifik. Perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk mendeteksi keberadaan parasit malaria dalam darah. Metode pemeriksaan yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya parasit *Plasmodium* dalam darah yaitu menggunakan pemeriksaan mikroskopis apusan darah tebal dan tipis (Varo, 2021). Prosedur ini melibatkan penggunaan sediaan darah yang diwarnai dengan Giemsa sebelum diperiksa di bawah mikroskop. Sebagai zat pewarna yang populer, Giemsa memberikan pewarnaan tipis pada sel darah merah (RBC), namun mampu menonjolkan parasit, sel darah putih (WBC), trombosit, serta berbagai artefak dengan sangat jelas (Jan *et al.*, 2018).

Pemeriksaan mikroskopis idealnya dilakukan dengan menggunakan sampel darah kapiler yang selanjutnya dibuat sediaan darah tebal dan tipis pada kaca objek. Apusan darah tebal lebih sensitif untuk mendeteksi parasit, sedangkan apusan darah tipis lebih spesifik untuk identifikasi spesies (WHO, 2016).

IV. ALAT DAN BAHAN

A. Alat

1. Lancet
2. Mikroskop
3. APD

B. Bahan

1. Kertas whatman
2. Pewarna Giemsa
3. Aquades
4. Alkohol absolut
5. Darah kapiler
6. Kaca objek
7. Minyak imersi

V. PROSEDUR PEMERIKSAAN

A. Uji kelayakan Giemsa

1. Letakan kertas saring *whatman* di atas *petri dish* dengan bagian tengah kertas tidak menyentuh dasarnya;
2. Teteskan 1-2 tetes larutan giemsa pada kertas saring, tunggu hingga meresap dan menyebar;
3. Teteskan 3-4 tetes *methanol absolute* di tengah bulatan giemsa secara perlahan selama beberapa detik hingga diameter giemsa mencapai 5 cm;
4. Apabila larutan Giemsa masih baik maka akan didapatkan lingkaran methylene blue di tengah, lingkaran methylene azur di luarnya, lingkaran tipis merah muda di bagian tepi.

B. Pembuatan Larutan Kerja Giemsa 3% Segar

1. Tempatkan 9,7 mL buffer atau aquadest dengan pH 7.2 ke dalam *beaker glass* atau tabung bersih;
2. Saring larutan giemsa melalui kertas saring dan pindahkan ke wadah berkapasitas 25 hingga 50 mL;
3. Tambahkan 0,3 mL larutan Giemsa menggunakan pipet yang bersih dan kering, jangan mengambil aliquot dari botol besar yang berisi larutan giemsa untuk menghindari kontaminasi;
4. Siapkan larutan kerja giemsa tepat sebelum mewarnai apusan darah, gunakan maksimal 15 menit setelah persiapan;
5. Buang pewarna yang tidak terpakai (WHO, 2016).

C. Pembuatan Apusan Darah Tebal

1. Buat 3-4 tetes darah pada kaca objek;
2. Gunakan sudut bersih dari *spreader*, ratakan tetesan darah dalam bentuk lingkaran dengan diameter 1-2 cm hingga apabila sediaan diletakkan di atas koran maka tulisan koran dapat terbaca;
3. Tunggu sediaan tebal hingga kering dengan sempurna

4. Lakukan pewarnaan menggunakan Giemsa 3% sesuai dengan petunjuk penggunaan
 5. Pewarnaan Giemsa umumnya dilakukan dengan mencelupkan apusan darah ke dalam pewarna Giemsa selama 45-60 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir, dan dikeringkan di udara
 6. Setelah kering, amati apusan darah di bawah mikroskop
- D. Pembuatan apusan darah tipis
1. Buat 3-4 tetes darah pada object glass;
 2. Gunakan sudut bersih dari spreader membentuk sudut 45 derajat dengan kaca objek pertama;
 3. Luncurkan perlahan pada tepi kaca objek atas hingga darah menyebar tipis dan merata, membentuk seperti persegi panjang;
 4. Lepaskan kaca objek atas dengan gerakan cepat dan halus;
 5. Biarkan apusan darah kering di udara selama beberapa menit;
 6. Lakukan fiksasi dengan mencelupkan apusan darah ke dalam alkohol 95% selama 5 detik;
 7. Tunggu sediaan tipis hingga kering dengan sempurna;
 8. Lakukan pewarnaan menggunakan Giemsa 3% sesuai dengan petunjuk penggunaan;
 9. Pewarnaan giemsa umumnya dilakukan dengan mencelupkan apusan darah ke dalam pewarna giemsa selama 45-60 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir, dan dikeringkan di udara;
 10. Setelah kering, amati apusan darah di bawah mikroskop

VI. PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS

A. Pembacaan Hasil Pemeriksaan Apusan Darah Tebal

1. Tempatkan sediaan apusan darah yang telah diwarnai giemsa pada *stage* mikroskop dengan label di sebelah kiri, posisikan sediaan tebal sesuai dengan lensa objektif 10x;
2. Nyalakan mikroskop, sesuaikan sumber cahaya secara optimal dan temukan fokus dengan melihat melalui okuler dan lensa objektif 10x;

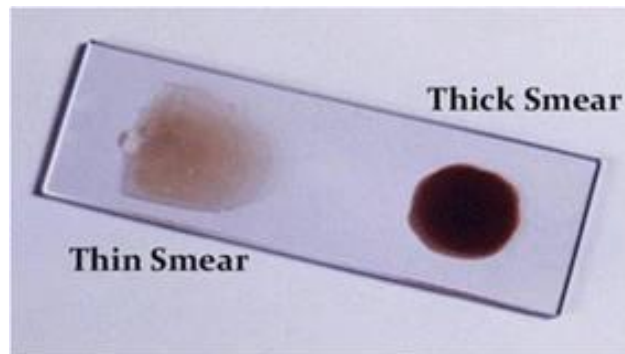
3. Pindai sediaan apusan darah untuk mencari parasit dan elemen darah. Pilih bagian sediaan yang terwarnai dengan baik dan memiliki distribusi sel darah putih yang merata;
4. Tempatkan setetes kecil minyak imersi pada sediaan tebal, pasitkan aplikator minyak imersi tidak menyentuh slide dan jangan biarkan lensa objektif 40x menyentuh minyak untuk menghindari kontaminasi;
5. Pindahkan lensa objektif 100x ke bagian sediaan yang dipilih. Gunakan penyesuaian fokus halus untuk melihat gambar dengan jelas. Naikkan stage mekanik untuk menghindari kerusakan pada kaca objek;
6. Gunakan penyesuaian halus, fokuskan pandangan pada elemen sel, dan pastikan bahwa sediaan tersebut layak dengan ditemukannya 15-20 sel darah putih per bidang;
7. Periksa slide secara sistematis. Mulailah dari kiri atas kemudian bergerak secara horizontal ke kanan, bidang demi bidang;
8. Saat mencapai ujung film lainnya, gerakan slide sedikit ke bawah, lalu ke kiri, bidang demi bidang, dan seterusnya. Fokuskan dan refokuskan terus menerus dengan penyesuaian halus selama pemeriksaan setiap bidang agar pemeriksaan efisien (WHO, 2016).

B. Pembacaan Hasil Pemeriksaan Apusan Darah Tipis

1. Tempatkan setetes minyak imersi di tepi berbulu sediaan tipis;
2. Pindahkan dari lensa 10x ke lensa imersi minyak 100x;
3. Periksa ujung atau tepi berbulu sediaan tipis di mana sel darah merah terletak berdampingan dan terdapat tumpang tindih minimal;
4. Gerakkan sepanjang tepi sediaan, kemudian gerakkan slide ke luar dengan satu bidang, ke dalam dengan satu bidang, kembali dengan gerakan lateral, dan seterusnya;
5. Lanjutkan memeriksa sediaan tipis hingga keberadaan dan spesies parasit malaria telah dikonfirmasi;

6. Identifikasi dan catat semua spesies dan tahapan yang diamati dalam register mikroskopi darah malaria (WHO, 2016).

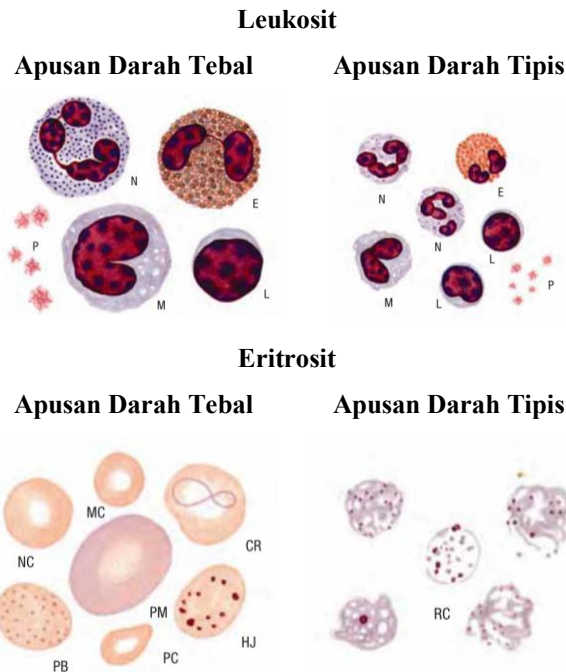
VII. INTERPRETASI HASIL



Gambar 1. Sediaan Apusan Darah Tebal dan Tipis (Jan *et al.*, 2018).

Human Malaria				
Stages Species	Ring	Trophozoite	Schizont	Gametocyte
<i>P. falciparum</i>				
<i>P. vivax</i>				
<i>P. malariae</i>				
<i>P. ovale</i>				
<i>P. knowlesi</i>				

Gambar 2. Lima Spesies *Plasmodium* (Poostchi *et al.*, 2018).



Gambar 3. Elemen Darah yang Tercat Giemsa (WHO, 2010).

N = *Neutrophil*, E= *Eosinophil*, M = *Monocyte*, L = *Lymphocyte*, P = *Platelets*, NC= *Normocyte*, MC = *Microcyte*, PM = *Polychromatic macrocyte*, PC = *Poikilocyte*, PB = *Punctate basophilia*, CR = *Cabot's ring*, HJ = *Howell-Jolly bodies*, RC = *Reticular 'clouds' and chromatoid bodies in severe anemia*.

Metode kuantifikasi dapat dilakukan dengan menghitung densitas parasit pada sediaan apusan darah tebal, yaitu dengan menghitung jumlah parasit fase aseksual (bentuk cincin, trofozoit, dan skizon) per 200 leukosit, kemudian dikalikan dengan faktor pengali 40 untuk memperoleh jumlah parasit per mikroliter darah, dengan asumsi jumlah leukosit rata-rata sebesar 8000 sel/ μ L.). Selain itu, kuantifikasi juga dapat dilakukan dengan menentukan parasitemia pada sediaan apusan darah tipis, yaitu dengan menghitung persentase eritrosit yang terinfeksi parasit dibandingkan dengan jumlah total eritrosit yang diamati (WHO, 2016).

Rumus standar WHO:

$$\text{Densitas parasit} = \frac{\text{Jumlah parasit}}{\text{Jumlah leukosit yang dihitung}} \times 8000$$

$$\text{Parasitemia (\%)} = \frac{\text{Eritrosit yang terinfeksi}}{\text{Total eritrosit}} \times 100$$

VIII. KESALAHAN UMUM DAN *TROUBLESHOOTING*

A. Apusan darah terlalu tebal atau terlalu tipis

1. Masalah:
 - Apusan terlalu tebal → sulit melihat parasit, pewarnaan tidak merata
 - Apusan terlalu tipis → parasit sulit ditemukan
2. Penyebab:
 - Volume darah tidak sesuai
 - Teknik penyebaran kurang tepat
3. Solusi:
 - Gunakan tetesan darah yang sesuai
 - Latih sudut dan kecepatan penyebaran apusan

B. Sediaan tebal terlepas saat pewarnaan

1. Masalah:
 - Lapisan darah tebal terkelupas atau hilang
2. Penyebab:
 - Preparat belum kering sempurna
 - Pembilasan terlalu kuat
3. Solusi:
 - Keringkan minimal 30–60 menit atau hingga benar-benar kering
 - Bilas perlahan dengan buffer

C. Pewarnaan terlalu pucat atau terlalu gelap

1. Masalah:
 - Struktur parasit tidak jelas
2. Penyebab:
 - Konsentrasi Giemsa tidak tepat
 - Waktu pewarnaan terlalu singkat atau terlalu lama
 - pH buffer tidak sesuai
3. Solusi:
 - Gunakan Giemsa 3% dengan pH $\pm 7,2$

- Ikuti waktu pewarnaan standar
- Siapkan larutan segar

D. Banyak artefak atau presipitasi pewarna

1. Masalah:
 - Tampak partikel yang mengganggu interpretasi
2. Penyebab:
 - Larutan tidak disaring
 - Slide kotor
3. Solusi:
 - Saring Giemsa sebelum digunakan
 - Gunakan kaca objek bersih

E. Parasit tidak ditemukan padahal klinis kuat

1. Masalah:
 - Hasil negatif palsu
2. Penyebab:
 - Pemeriksaan lapang pandang terlalu sedikit
 - Parasitemia rendah
 - Salah area pemeriksaan
3. Solusi:
 - Periksa minimal jumlah lapang pandang standar (misalnya ≥ 100 LPB)
 - Ulangi pemeriksaan
 - Fokus pada area dengan distribusi sel baik

F. Kesulitan membedakan morfologi parasit

1. Masalah:
 - Salah identifikasi spesies
2. Penyebab:
 - Pembesaran tidak optimal
 - Kurang pengalaman
3. Solusi:
 - Gunakan objektif 100 $\times$ dengan minyak imersi
 - Bandingkan dengan atlas referensi

G. Minyak imersi mencemari preparat tebal

1. Masalah:
 - Lapisan rusak atau tidak dapat dibaca
2. Penyebab:
 - Preparat belum kering saat diberi minyak
3. Solusi:
 - Pastikan preparat benar-benar kering sebelum pemeriksaan

IX. KESELAMATAN KERJA LABORATORIUM

Pemeriksaan apusan darah untuk diagnosis malaria melibatkan penanganan spesimen biologis yang berpotensi menularkan penyakit, sehingga penerapan prinsip keselamatan kerja laboratorium sangat penting untuk melindungi petugas dan menjaga kualitas pemeriksaan.

A. Penggunaan Alat Pelindung Diri (APD)

1. Gunakan jas laboratorium, sarung tangan, dan masker selama bekerja.
2. Gunakan pelindung mata jika terdapat risiko percikan bahan biologis atau reagen.
3. Lepaskan APD dengan benar setelah selesai dan lakukan kebersihan tangan.

B. Penanganan Spesimen Darah

1. Perlakukan semua sampel darah sebagai bahan infeksius.
2. Hindari kontak langsung dengan darah atau cairan tubuh.
3. Gunakan alat sekali pakai untuk pengambilan dan penanganan sampel.

C. Pencegahan Cedera Benda Tajam

1. Gunakan lancet atau jarum dengan hati-hati.
2. Jangan menutup kembali jarum setelah digunakan (*no recapping*).
3. Buang benda tajam ke dalam wadah khusus sharps container.

D. Penanganan Bahan Kimia

1. Gunakan larutan pewarna seperti Giemsa sesuai prosedur.
2. Hindari inhalasi uap atau kontak langsung dengan kulit dan mata.

3. Simpan bahan kimia dalam wadah tertutup dan berlabel.

E. Kebersihan Area Kerja

1. Bersihkan meja kerja sebelum dan sesudah pemeriksaan menggunakan disinfektan.
2. Pastikan kaca objek dan peralatan dalam kondisi bersih.
3. Hindari makan, minum, atau menyimpan makanan di area laboratorium.

F. Pembuangan Limbah

1. Buang limbah biologis sesuai prosedur pengelolaan limbah infeksius.
2. Pisahkan limbah tajam, limbah cair, dan limbah padat.
3. Ikuti kebijakan keselamatan dan lingkungan yang berlaku.

G. Tindakan Jika Terjadi Paparan

1. Segera cuci area yang terpapar dengan sabun dan air mengalir.
2. Laporkan kejadian kepada penanggung jawab laboratorium.
3. Ikuti prosedur penanganan paparan sesuai protokol institusi.

DAFTAR PUSTAKA

Idro, R., Kakooza-Mwesige, A., Asea, B., Ssebyala, K., Bangirana, P., Opoka, R.O., Lubowa, S.K., Semrud-Clikeman, M., John, C.C. and Nalugya, J., 2016. Cerebral malaria is associated with long-term mental health disorders: a cross-sectional survey of a long-term cohort. *Malaria journal*, 15, pp.1-11.

Jan, Z., Khan, A., Sajjad, M., Muhammad, K., Rho, S. and Mehmood, I., 2018. A review on automated diagnosis of malaria parasite in microscopic blood smears images. *Multimedia Tools and Applications*, 77, pp.9801-9826.

Nosten, F., Richard-Lenoble, D. and Danis, M., 2022. A brief history of malaria. *La presse médicale*, 51(3), p.104130.

Pandey, S.K., Anand, U., Siddiqui, W.A. and Tripathi, R., 2023. Drug development strategies for malaria: with the hope for new antimalarial drug discovery—an update. *Advances in medicine*, 2023(1), p.5060665.

Varo, R., Balanza, N., Mayor, A. and Bassat, Q., 2021. Diagnosis of clinical malaria in endemic settings. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 19(1), pp.79-92.

World Health Organization. 2010. Basic malaria microscopy. *World Health Organization*.

World Health Organization. 2016. Malaria microscopy quality assurance manual-version 2. *World Health Organization*.

World Health Organization. 2016. Preparation of Giemsa working solution. Malaria microscopy standard operating procedure (No. WHO/HTM/GMP/MM/SOP/2016.04). *World Health Organization*.

World Health Organization, 2016. Collection of finger-prick blood and preparation of thick and thin blood films (No. WHO/HTM/GMP/MM/SOP/2016.05 a). *World Health Organization*.

World Health Organization. 2016. Microscopy examination of thick and thin blood films for identification of malaria parasites (No. WHO/HTM/GMP/MM/SOP/2016.08). *World Health Organization*.

World Health Organization. 2022. *World Malaria Report*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.