

LAMPIRAN
KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
NOMOR 1335/MENKES/SK/X/2002 TAHUN 2002
TENTANG
STANDAR OPERASIONAL PENGAMBILAN DAN PENGUKURAN SAMPEL KUALITAS UDARA
RUANGAN RUMAH SAKIT

I. PROSEDUR PENGUKURAN LINGKUNGAN FISIK

A. PENGUKURAN SUHU.

1. Lokasi pengukuran
 - a. Ruang operasi
 - b. Ruang bersalin
 - c. Ruang pemulihan/perawatan pasien
 - d. Ruang observasi
 - e. Ruang perawatan bayi
 - f. Ruang perawatan prematur
 - g. Ruang ICU
2. Titik pengukuran
Jumlah titik pengukuran minimal 10% dari jumlah masing-masing ruangan.
3. Waktu pengukuran
Waktu pengukuran dilakukan pada siang hari, khusus ruang operasi dan ICU harus diperiksa pada saat sebelum dipergunakan.
4. Cara pengukuran.
 - a. Nama alat: Thermometer
 - b. Persiapan alat:
 - 1). Siapkan alat, lakukan kalibrasi dan uji fungsi
 - 2). Baca petunjuk penggunaan alat sebelum alat dioperasikan.
 - c. Pengoperasian alat:
 - 1). Letak alat:
 - a). Letakkan alat pada dinding ruang atau dapat menggunakan tripot.
 - b). Hindarkan alat dari panas sinar matahari langsung.
 - 2). Lama pengukuran: pengukuran dilakukan sampai menunjukkan angka yang stabil
5. Cara pembacaan
Pembacaan hasil pengukuran dilakukan secara langsung

B. PENGUKURAN KELEMBABAN.

1. Lokasi pengukuran
 - a. Ruang operasi
 - b. Ruang bersalin
 - c. Ruang pemulihan/perawatan pasien
 - d. Ruang observasi
 - e. Ruang perawatan bayi
 - f. Ruang perawatan prematur
 - g. Ruang ICU
2. Titik pengukuran

- Jumlah titik pengukuran minimal 10% dari jumlah masing-masing ruangan
3. Waktu pengukuran
Waktu pengukuran dilakukan pada siang hari.
 4. Cara pengukuran.
 - a. Nama alat: Hygrometer
 - b. Persiapan alat:
Siapkan alat dan bacalah petunjuk penggunaan alat sebelum alat dioperasikan.
 - c. Pengoperasian alat:
 - 1). Letak alat:
Letakkan alat pada dinding ruang atau dapat menggunakan tripod.
 - 2). Lama pengukuran:
Pengukuran dilakukan sampai menunjukkan angka yang stabil.
 5. Cara pembacaan:
Pembacaan hasil pengukuran dilakukan secara langsung

C. PENGUKURAN PENCAHAYAAN.

1. Lokasi pengukuran
 - a. Ruang perawatan pasien
 - b. Ruang operasi.
 - c. Ruang anestesi dan ruang pemulihan
 - d. Ruang endoscopy dan laboratorium
 - e. Ruang X-Ray
 - f. Koridor
 - g. Tangga
 - h. Kantor/Lobi
 - i. Ruang alat/Gudang
 - j. Ruang farmasi
 - k. Dapur
 - l. Ruang cuci
 - m. Toilet
 - n. Ruang isolasi khusus penyakit tetanus
2. Titik pengukuran
Jumlah titik pengukuran minimal 10% dari jumlah masing-masing ruangan.
3. Waktu pengukuran
 - a. Waktu pengukuran dilakukan pada siang hari, kecuali untuk koridor dilakukan pada malam hari.
 - b. Pada ruang perawatan, pengukuran dilakukan baik pada saat pasien sedang tidur maupun tidak tidur.
4. Cara pengukuran
 - a. Nama alat: Lightmeter
 - b. Persiapan alat:
Siapkan alat dan bacalah petunjuk penggunaan alat sebelum alat dioperasikan.
 - c. Pengoperasian alat:
 - 1). Letak alat
 - a). Ruang perawatan pasien:

Letakkan alat di atas tempat tidur yang terjauh dari sumber cahaya (lampu).

- b). Ruang operasi: letakkan alat di atas meja operasi.
- c). Ruang lainnya: letakkan alat di mana terdapat kegiatan.

2). Lama pengukuran:

Pengukuran dilakukan sampai menunjukkan angka yang stabil

5. Cara pembacaan:

Pembacaan alat dilakukan secara langsung. Bila satuan alat dalam Foot Candel, maka perlu dikonversi pada lux di mana $1 \text{ Lux} = 10 \text{ FC}$.

D. PENGUKURAN DEBU TOTAL (TSP/TOTAL SUSPENDED PARTICULATE)

1. Lokasi pengukuran

- a. Ruang perawatan pasien
- b. Bengkel
- c. Ruang cuci
- d. Ruang Tunggu
- e. Ruang operasi/ICU

2. Titik Pengukuran

- a. Minimal 10% dari jumlah masing-masing ruangan.
- b. Jumlah titik pengukuran sekurang-kurangnya 1 untuk tiap jenis ruangan.

3. Waktu Pengukuran

Siang hari (10.00 – 13.00 WIB)

4. Cara Pengukuran

- a. Nama alat: Low Volume Air Sampler (LVS)

- b. Persiapan alat:

- 1). Kalibrasi alat lakukan uji fungsi alat
- 2). Persiapkan kertas filter dengan cara sebagai berikut:
 - a). Ambil kertas filter dari kemasannya
 - b). Kertas filter yang akan dipakai diperiksa dahulu dari kemungkinan adanya lubang/kerusakan.
 - c). Panaskan di dalam oven pada temperatur $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ selama ± 60 menit
 - d). Keluarkan kertas filter dari dalam oven kemudian masukkan ke dalam desicator (± 10 menit).
 - e). Setelah dingin keluarkan dari desicator dan segera lakukan penimbangan, catat berat kertas filter (berat awal).
 - f). Kertas filter disimpan pada amplop/map, setelah itu siap untuk digunakan.

- c. Pengoperasian:

- 1). Letak alat

Letakkan alat pada ruangan dengan menggunakan meja atautripod.

- 2). Pelaksanaan pengukuran:

- a). Siapkan alat
- b). Letakkan kertas filter yang telah ditimbang pada filter holder.
- c). Hidupkan alat sampai waktu yang ditentukan
- d). Atur flow meter dungeon kecepatan aliran udara.

- e). Setelah selesai pengukuran, ambil kertas filter, lipat dan masukan dalam amplop.
- 3). Lama pengukuran
Flowmeter diatur sesuai kecepatan aliran udara yang diinginkan, amati setiap 15 menit dan catat.
- 5. Metode analisis
 - a. Panaskan kertas filter hasil sampel dalam oven dengan suhu 100 °C selama ± 60 menit.
 - b. Dinginkan di dalam desicator ± 10 menit.
 - c. Lakukan penimbangan dan catat beratnya (berat akhir).
 - d. Lakukan perhitungan.

Cara menghitung kadar debu total dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar debu} = \frac{\text{Berat akhir filter} - \text{berat awal filter}}{Q \times t} = \dots \text{ mg/m}^3$$

Keterangan :

Q : rata-rata volume udara yang terhisap (liter per menit)

t : waktu sampel (menit)

E. PROSEDUR PENGUKURAN KEBISINGAN

1. Lokasi pengukuran
 - a. Ruang perawatan pasien
 - b. Ruang isolasi
 - c. Ruang radiologi
 - d. Ruang operasi
 - e. Poliklinik/poli gigi
 - f. Bengkel
 - g. Laboratorium
 - h. Ruang cuci
 - i. Dapur.
 - j. Ruang boiler
 - k. Ruang tunggu
2. Titik pengukuran
Pada masing-masing ruangan minimal 10% dari jumlah ruangan.
3. Waktu pengukuran
Pengukuran dapat dilakukan pada waktu kerja, kecuali pada ruang perawatan dan isolasi di luar jam kunjungan.
4. Cara pengukuran
 - a. Nama alat: Sound Level Meter
 - b. Persiapan alat:
 - 1). Lakukan uji fungsi alat
 - 2). Lakukan kalibrasi alat
 - c. Pengoperasian alat
 - 1). Letak alat
Posisikan alat di tengah ruangan dungeon ketinggian lk. 1,5 meter

- 2). Lama pengukuran
Pengukuran dilakukan selama 5 - 10 menit dan dibaca setiap 5 detik

5. Cara pembacaan
Baca langsung pada alat dengan menekan tombol mode atau dari hasil pencatatan dengan nilai mode. Hasil yang didapat kemudian dirata-ratakan.

II. PROSEDUR PENGAMBILAN SAMPEL KIMIA – GAS

Parameter gas-gas polutan yang dipantau/diukur: H₂S, NH₃, CO, SO₂, HC, Ozon, Ether dan NO₂. Dalam buku ini terbatas pada gas-gas H₂S, NH₃, SO₂ dan NO₂, sedangkan untuk gas-gas CO, Ozon, HC dan Ether tidak dibahas karena metode yang digunakan adalah sistem kering dan dapat dilakukan pembacaan langsung.

1. Lokasi pengambilan sampel
 - a. Ruang perawatan pasien
 - b. Ruang laboratorium
 - c. Instalasi Gizi/ dapur
 - d. UGD
 - e. Laundry
 - f. Ruang farmasi
2. Titik pengambilan sampel
Jumlah titik sampel minimal 10 % dari jumlah masing-masing ruangan
3. Waktu pengambilan sampel
Pengambilan sampel gas polutan dilakukan pada siang hari.
4. Cara pengambilan sampel
 - a. Nama alat:
 - 1). Impinger Gas Sampler (untuk pengambilan sampel gas: H₂S, NH₃, SO₂, Ozone, NO₂)
 - 2). Plastic Bag (untuk pengambilan sampel gas: HC, CO, Ether)
 - b. Persiapan:
 - 1). Impinger Gas Sampler
 - a). Lakukan uji fungsi alat dengan menggunakan aquades sebagai pengganti absorbans.
 - b). Siapkan dan set alat pada lokasi pengambilan sampel
 - 2). Plastik Bag
 - a). Siapkan plastik bag
 - b). Cek dari kemungkinan adanya kebocoran
 - c. Cara pengoperasian:
 - 1). Impinger Gas Sampler
 - a). Letak alat
Letakkan alat pada titik pengambilan sampel yang sudah ditentukan
 - b). Merangkai alat:
 - (1). 5 tabung impinger yang telah diisi larutan absorbans (\pm 10 ml) masing-masing dihubungkan dengan tabung impinger yang berisi silikagel menggunakan slang penghubung dari plastik.
 - (2). Masing-masing tabung diatur pada alat air gas samper (Vacum pump)

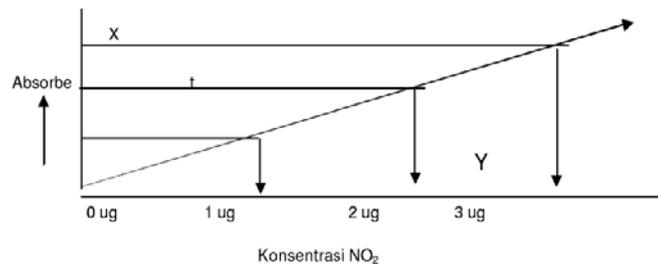
- (3). 5 tabung yang berisikan larutan absorbans masing-masing dihubungkan dengan pompa vacum pada inlet dengan menggunakan slang penghubung dari plastik.
 - c). Cara pengambilan sampel:
 - (1). kabel power dihubungkan dengan listrik, kemudian pompa vacum dihidupkan dengan mengatur panel ke posisi ON.
 - (2). Masing-masing skala flow meter diatur debitnya dan dalam posisi low atau high sesuai dengan aliran udara yang dikehendaki.
 - (3). Jika pengambilan sampel telah selesai, matikan alat dengan merubah panel vacum ke posisi OFF.
 - (4). Masing-masing tabung impinger yang berisi larutan absorbans dilepas kemudian larutan absorbans dipindahkan ke dalam botol sampel warna gelap/cokelat dan diberi tanda, kemudian disimpan dalam box pendingin tempat sampel.
 - (5). Selanjutnya pengujian sampel gas dapat diperiksa di laboratorium.
 - d). Lama pengukuran
 - (1). NH₃, SO₂, dan NO₂ dilakukan selama 1 jam
 - (2). H₂S dilakukan pada siang hari selama 30 menit.
 - 2). Plastic Bag
 - a). Sampel:
 - (1). Udara dihisap sejumlah volume tertentu dengan bantuan pompa vacum, udara yang telah terhisap di masukan ke dalam plastic bag.
 - (2). Tutup mulut plastik bag dengan rapat.
 - (3). Analisa di laboratorium.
 - b). Lama pengukuran:
Pengukuran dilakukan secara sesaat
5. Metode analisis
- a. Pengujian gas NO₂
 - 1). Metoda: Griess Saltman
 - 2). Prinsip:
NO₂ bereaksi dengan N-(1-Naphtil) – Ethylene Diamine Dihydrochlorida akan membentuk warna merah violet. Intensitasnya akan diukur dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 550 nm.
 - 3). Gangguan: Relatif tidak ada gangguan.
 - 4). Peralatan & Bahan:
 - a). Peralatan: - Spektrophotometer
 - b). Bahan:
 - ? Absorban NO₂
 - ? Larutan standar NO₂
 - ? Aquabides
 - 5). Cara pembuatan absorban NO₂:
 - a). Timbang 5 gram sulfanilic anhydrous atau 5.5 gram sulfanilic acid monohydrat.
 - b). Panaskan dengan 100 ml aquabides sampai larut sempurna sambil diaduk sampai homogen.

- c). Setelah dingin ditambah 20 ml larutan 0,1% N (Naphtyl)-Ethylene diamene dihydro chloride dan 10 ml aceton.
 - d). Tambahkan 140 ml asam acetat glacial dan tambahkan aquabides bebas CO₂ sampai 1 liter.
 - e). Simpan dalam botol kaca warna gelap/cokelat dan disimpan dalam refrigerator.
- 6). Pembuatan kurva standar:
- a). Larutan konsentrasi:
Dibuat satu seri larutan standar NO₂ : 1,0 mg/l; 2,0 mg/l; 3,0 mg/l dari larutan standar baku NO₂ 100 mg/l.
 - b). Absorban:
Diambil 4 buah labu ukur 10 ml, masing-masing diisi bahan sbb.:

NO.	BAHAN	KONSENTRASI			
		Labu I (blanko)	Labu II (1 mg/l)	Labu III (2 mg/l)	Labu IV (3 mg/l)
1.	Larutan standar NO ₂	-	1 ml	2 ml	3 ml
2.	Larutan absorban NO ₂	10 ml	9 ml	8 ml	7 ml

Absorban larutan campuran I s/d IV dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 575 nm.

- c). Lain-lain
 - (1). Kurva standar hanya berlaku untuk larutan absorbans yang dipakai, apabila digunakan larutan absorbans baru atau larutan berubah warna maka dibuat kurva standar yang baru.
 - (2). Spektrophotometer yang digunakan harus dikalibrasikan dahulu.
- 7). Pembuatan grafik kurva standar sbb.:



- 8). Pembacaan sampel uji dengan spektrophotometer:
 - a). Larutan absorban dalam impinger hasil sampling dimasukkan ke dalam kuvet 10 ml.
 - b). Ditambahkan aquabides sampai batas tanda, dicampur hingga homogen.
 - c). Dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 550 nm, dan hasil pembacaannya dicatat (X).
- 9). Pembacaan sampel uji pada kurva standar:
 - a). Dari hasil pembacaan sampel uji (X) letakkan pada skala absorban.
 - b). Tarik garis horizontal ke arah garis linier sejajar garis konsentrasi

- c). Tarik garis vertikal ke arah skala konsentrasi sejajar absorban.
- d). Titik pertemuan pada garis konsentrasi dibaca dan dicatat, misal ug NO₂.

10). Perhitungan

Setelah didapat hasil konsentrasi sampel dari pembacaan kurva, kemudian hasilnya dibaca lagi dengan menggunakan rumus:

$$\frac{Y}{Q \times t} = \dots\dots \text{ ug/m}^3$$

Keterangan :

Y = Hasil pembacaan pada kurva standar (Y) ug NO₂

Q = Volume udara terhisap(liter/menit)

t = Waktu sampling (menit)

b. Pengujian gas SO₂

1). Metoda: Pararosanillin

2). Prinsip:

SO₂ bereaksi dengan Kalium tetrachloromerkurat (TCM) membentuk ion dichlorosulfitmerkurat yang bereaksi dengan pararosanilin hydrochlori dalam HCL dan formaldehyde membentuk warna merah ungu.

Intensitasnya dapat diukur menggunakan spektrophotometer pada panjang gelombang 575 nm.

3). Gangguan: Relatif tidak ada gangguan.

4). Peralatan & Bahan:

a). Peralatan: - Spektrophotometer

b). Bahan:

(1). Larutan Absorban SO₂

(2). Asam sulfanilat

(3). Formaldehyde

(4). Larutan standar SO₂

(5). Aquabides

5). Cara pembuatan absorban SO₂:

a). Timbang masing-masing: 10,86 gr Hg CL₂, 5,96 gr KCL, 0,066 gr EDTA

b). Masing-masing dilarutkan dalam 100 ml aquabidest bebas CO₂ sampai 1 Liter, atur pH 5,2.

c). Simpan dalam botol kaca warna gelap/cokelat dan disimpan dalam refrigerator.

6). Pembuatan kurva standar:

a). Larutan konsentrasi:

Dibuat satu seri larutan standar SO₂: 1,0 mg/l; 2,0 mg/l; 3,0 mg/l dari larutan standar baku NO₂ 100 mg/l.

b). Absorban:

diambil 4 buah labu ukur 10 ml, masing-masing diisi bahan sbb.:

NO.	BAHAN	KONSENTRASI			
		Labu I (blanko)	Labu II (1 mg/l)	Labu III (2 mg/l)	Labu IV (3 mg/l)

1.	Larutan standar SO ₂	-	1 ml	2 ml	3 ml
2.	Larutan absorban SO ₂	10 ml	9 ml	8 ml	7 ml
3.	Asam sulfanilat 0,6%	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
4.	Formaldehide 0,2 %	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
5.	Pararosanilin pro SO ₂	5 ml	5 ml	7 ml	5 ml
6.	Aquabidestt panas	7 ml	7 ml	5 ml	7 ml

Absorban larutan campuran I s/d IV dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 575 nm.

c). Lain-lain:

- 1). Kurva standar hanya berlaku untuk larutan absorbans yang dipakai, apabila digunakan larutan absorban baru atau larutan berubah warna maka dibuat kurva standar yang baru.
- 2). Spektrophotometer yang digunakan harus dikalibrasi dahulu.

7). Pembuatan kurva standar sbb.:

8). Pembacaan sampel uji dengan spektrophotometer:

- a) Larutan absorban dalam impinger hasil sampling dimasukkan dalam labu ukur 25 ml.
- b) Ditambah 1 ml asam sulfanilat, dicampur ditambah 2 ml formaldehide, dicampur, ditambah 5 ml pararosanilin, dicampur, ditambah aquabidest panas sampai batas tanda.
- c) Dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit supaya bereaksi sempurna.
- d) Diambil 10 ml larutan sampel uji masukkan dalam kuvet yang bersih dan dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 575 nm.
- e) Hasil dicatat, misalnya (X).

9). Pembacaan sampel uji pada kurva standar:

- a) Dari hasil pembacaan sampel uji (X) letakkan pada skala absorban.
- b) Tarik garis horizontal ke arah garis linier sejajar garis konsentrasi
- c) Tarik garis vertikal ke arah skala konsentrasi sejajar absorban.
- d) Titik pertemuan pada garis konsentrasi dibaca dan dicatat, misal

10). Perhitungan

Setelah didapat hasil konsentrasi sampel dari pembacaan kurva, kemudian hasilnya dibaca lagi dengan menggunakan rumus:

$$\frac{Y}{Q \times t} = \dots \text{ ug/m}^3$$

Keterangan :

- Y = Hasil pembacaan pada kurva standar (Y) ug SO₂
 Q = Volume udara terhisap(liter/menit)
 t = Waktu sampling (menit)

c. Pengujian gas H₂S

1. Metoda: Braverman

2. Prinsip:

Ion sulfida bereaksi dengan N,N diethyl 1,4 phenylene diamine dan feri chlorida akan membentuk metylene blue.

Intensitasnya dapat diukur menggunakan spektrophotometer pada panjang gelombang 760 nm.

3. Gangguan: Relatif tidak ada gangguan.

4. Peralatan & Bahan:

a. Peralatan: - Spektrophotometer

b. Bahan:

- Larutan Absorban H₂S
- Larutan amin-N,N dimethyl 1,4 phenylene diamini
- Larutan ferri chlorida
- Larutan standar H₂S
- Aquabides

5. Cara pembuatan absorban H₂S:

- Larutan 4,3 gr CdSO₄ dalam 100 ml aquabidest bebas CO₂
- Larutkan 0,3 gr Na OH dalam 100 ml aquabidest bebas CO₂
- Kedua larutan tadi dicampur jadi satu dan encerkan dengan aquabidest bebas CO₂ sampai 1 liter.

6. Pembuatan kurva standar:

a. Larutan konsentrasi:

Dibuat satu seri larutan standar H₂S : 1,0 mg/l; 2,0 mg/l; 3,0 mg/l dari larutan standar baku H₂S 100 mg/l.

b. Absorban:

diambil 4 buah labu ukur 10 ml, masing-masing diisi bahan sbb.:

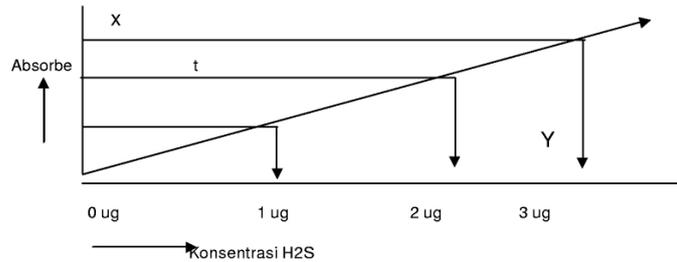
NO.	BAHAN	KONSENTRASI			
		Labu I (blanko)	Labu II (1 mg/l)	Labu III (2 mg/l)	Labu IV (3 mg/l)
1.	Larutan standar H ₂ S	-	1 ml	2 ml	3 ml
2.	Larutan amin	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml
3.	Larutan absorban H ₂ S	1 tetes	1 tetes	1 tetes	1 tetes
4.	Larutan ferri chlorida	25,0 ml	24,0 ml	23,0 ml	22,0 ml

Absorban larutan campuran I s/d IV dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 575 nm.

c. Lain-lain:

- 1) Kurva standar hanya berlaku untuk larutan absorbans yang dipakai, apabila digunakan larutan absorbans baru atau larutan berubah warna maka dibuat kurva standar yang baru.
- 2) Spektrophotometer yang digunakan harus dikalibrasi dahulu.

7. Pembuatan grafik kurva standar



8. Pembacaan sampel uji dengan spektrophotometer :

- Larutan absorbans dalam impinger hasil sampling dimasukkan dalam labu ukur 25 ml.
- Ditambah 0,3 ml larutan amin.
- Dicampur; ditambah 1 tetes larutan ferri chlorida, dicampur; ditambah aquabidest panas sampai batas tanda; dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit supaya reaksi sempurna.
- Diambil 10 ml larutan sampel uji masukkan dalam kuvet yang bersih dan dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 670 nm.
- Hasil dicatat, misalnya (X).

9. Pembacaan sampel uji pada kurva standar:

- Dari hasil pembacaan sampel uji (X) letakkan pada skala absorbans.
- Tarik garis horizontal ke arah garis linier sejajar garis konsentrasi
- Tarik garis vertikal ke arah skala konsentrasi sejajar absorbans.
- Titik pertemuan pada garis konsentrasi dibaca dan dicatat, misal Y mg/l H₂S.

10. Perhitungan

Setelah didapat hasil konsentrasi sampel dari pembacaan kurva, kemudian hasilnya dibaca lagi dengan menggunakan rumus:

$$\frac{Y}{Q \times t} = \dots \text{ ug/m}^3$$

Keterangan :

Y = Hasil pembacaan pada kurva standar (Y) ug H₂S

Q = Volume udara terhisap(liter/menit)

t = Waktu sampling (menit)

d. Pengujian gas NH₃

- 1). Metoda: Nessler
- 2). Prinsip: Ion amonium dengan larutan nessler akan terbentuk senyawa kompleks berwarna kuning sampai coklat.

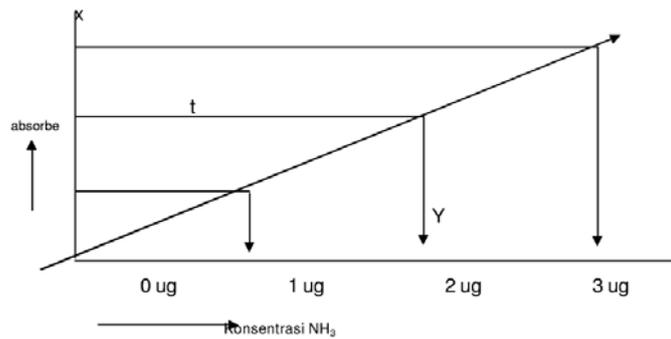
Intensitasnya dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm.

- 3). Gangguan: Relatif tidak ada gangguan.
- 4). Peralatan & Bahan:
 - a. Peralatan : - Spektrofotometer
 - b. Bahan : - Larutan Absorban NH₃
- Larutan Nessler
- Larutan standar NH₃
- Aquabides
- 5). Cara pembuatan absorban NH₃:
 - a. Encerkan larutan H₂SO₄ pekat dengan aquabidest hingga kepekatannya menjadi 0,0005 N, dengan cara sebagai berikut:
 - H₂SO₄ pekat (36 N) diencerkan dengan aquabidest hingga menjadi 4 N (pengenceran 9 X).
 - H₂SO₄ 4 N diencerkan lagi dengan aquabidest hingga menjadi 0,1 N (pengenceran 40 X).
 - H₂SO₄ 0,1 N diencerkan lagi dengan aquabidest hingga menjadi 0,05 N (pengenceran 100 X).
 - H₂SO₄ 0,05 N diencerkan lagi dengan aquabidest hingga menjadi 0,0005 N (pengenceran 100 X).
 - Kemudian disimpan dalam botol warna gelap/cokelat.
- 6). Pembuatan kurva standar:
 - a. Larutan konsentrasi:
Dibuat satu seri larutan standar NH₃: 1,0 mg/l; 2,0 mg/l; 3,0 mg/l dari larutan standar baku NO₂ 100 mg/l.
 - b. Absorban:
diambil 4 buah labu ukur 10 ml, masing-masing diisi bahan sbb.:

NO.	BAHAN	KONSENTRASI			
		Labu I (blanko)	Labu II (1 mg/l)	Labu III (2 mg/l)	Labu IV (3 mg/l)
1.	Larutan standar NH ₃	-	1 ml	2 ml	3 ml
2.	Larutan absorban	10 ml	9 ml	8 ml	7 ml
3.	Larutan Nessler	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
4.	Aquabidest bebas NH ₃	14,5 ml	14,5 ml	14,5 ml	14,5 ml

Absorban larutan campuran I s/d IV dibaca spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm.

- c. Lain-lain:
 - ? Kurva standar hanya berlaku untuk larutan absorbans yang dipakai, apabila digunakan larutan absorban baru atau larutan berubah warna maka dibuat kurva standar yang baru.
 - ? Spektrofotometer yang digunakan harus dikalibrasi dahulu.
- 7). Pembuatan grafik kurva standar



- 8). Pembacaan sampel uji dengan spektrophotometer:
 - Larutan absorban dalam impinger hasil sampling dimasukkan dalam labu ukur 25 ml.
 - Ditambah 0,5 ml larutan Nessler.
 - Dicampur, ditambah aquabidest bebas NH₃ sampai batas tanda, dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit supaya bereaksi sempurna.
 - Diambil 10 ml larutan sampel uji masukkan dalam kuvet yang bersih dan dibaca dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 410 nm.
 - Hasil dicatat, misalnya (X).
- 9). Pembacaan sampel uji pada kurva standar:
 - Dari hasil pembacaan sampel uji (X) letakkan pada skala absorban.
 - Tarik garis horizontal ke arah garis linier sejajar garis konsentrasi
 - Tarik garis vertikal ke arah skala konsentrasi sejajar absorban.
 - Titik pertemuan pada garis konsentrasi dibaca dan dicatat, misal Y mg/l NH₃.
- 10). Perhitungan

Setelah didapat hasil konsentrasi sampel dari pembacaan kurva, kemudian hasilnya dibaca lagi dengan menggunakan rumus:

$$\frac{Y}{Q \times t} = \dots \text{ ug/m}^3$$

Keterangan :

 - Y = Hasil pembacaan pada kurva standar (Y) ug NH₃
 - Q = Volume udara terhisap(liter/menit)
 - t = Waktu sampling (menit)

- e. Cara pengoperasian spektrophotometer
 - Tekan tombol ON/OFF
 - Pilih panjang gelombang pada 500 nm.
 - Atur agar tampilan pada display 100 T dan 0,00 A pada saat ruang sampel kosong.
 - Letakkan filter "D" (Dyadimium) pada cell holder.
 - Tutup penutup sampel, geser cel ke tempat sampel tepat pada lintasan cahaya.
 - Perbesar nilai panjang gelombang dari 500 nm ke 540 nm.

- Nilai minimum pada tampilan akan tercapai pada panjang gelombang 529 nm.
- Letakkan cuvet pada cel holder, kemudian tutup tempat penutup sampel.
- Pilih panjang gelombang yang sesuai dengan sampel yang akan dianalisa.
- Pilih Transmittance (T), absorbance (A) atau Concentration (C) dengan memutar tombol TACF sesuai dengan parameter yang diinginkan.
- Catat nilai yang tampak pada display.
- Jika sudah selesai keluarkan cuvet dari cel holde, spektrophotometer siap digunakan untuk pemeriksaan sampel berikutnya.

III. PROSEDUR PENGAMBILAN SAMPEL MIKROBIOLOGI

1. Lokasi pengambilan sampel
 - a. Ruang operasi
 - b. Ruang perawatan
 - c. Ruang isolasi
 - d. Ruang cuci
 - e. Dapur
2. Titik pengambilan sampel
Jumlah titik Sampel minimal sebesar 10% dari jumlah masing-masing ruangan.
3. Waktu pengambilan sampel
 - a. Ruang operasi dilakukan menjelang operasi (ruangan siap digunakan).
 - b. Ruang perawatan dan isolasi dilakukan setelah dilakukan pembersihan ruangan
4. Cara pengambilan sampel
 - a. Nama alat: Mikrobiologi Air Sampler
 - b. Persiapan, pengoperasian alat dan metode analisis
 - 1). Metode Agar
 - a) Persiapan
 - Lakukan uji fungsi alat
 - Lepas kipas dan pelindungnya lalu bungkus dengan kertas, sterilkan dalam autoclave dengan suhu 121oC selama 15 menit atau dengan sterilisasi kering dengan suhu 70oC selama 1 jam.
 - Badan alat didesinfeksi dengan menggunakan alkohol 70% atau desinfektan lainnya.
 - Pasang battery pada alat atau adaptor.
 - Pasang kembali kipas dan pelindung pada badan alat.
 - Atur waktu sesuai dengan lama pengambilan sampel yang direncanakan antara lain : ruang operasi dan ruang isolasi = 4 menit, ruang perawatan = 2 menit
 - Pasang alat pada piring penyangga/Tripod.
 - Siapkan agar strip (media agar)
 - b) Cara pengambilan sampel
 - Tempatkan alat pada titik Pengambilan sampel
 - Lepaskan media agar strip dari kemasannya dan segera pasang pada tempatnya (pelindung kipas) dengan posisi permukaan agar strip mengarah ke kipas.

- Hidupkan alat.
- Tekan tombol start pada remote starter (jarak petugas dengan alat minimal 3 meter) tinggalkan ruangan apabila alat sedang beroperasi.
- Alat akan berhenti secara otomatis sesuai dengan pengaturan waktu.
- Petugas segera masuk dan matikan alat.
- Lepaskan media agar strip dari tempatnya dan masukkan kembali pada kemasannya, tutup rapat dan disegel.
- Beri keterangan atau label seperlunya antara lain: waktu pengambilan, lokasi/tempat, lama pengambilan sampel dan nama petugas.
- Amankan agar strip tersebut dengan cara sbb.:
 - * Lapsi agar strip dengan aluminium foil
 - * Simpan pada cool box (kotak pendingin) dengan suhu 4 – 100C

c) Metode analisis

(1). Persiapan

- Masukkan agar strip pada incubator dengan suhu 30-35°C dan selama 24 jam (bila 24 jam tidak ada pertumbuhan kuman, pembiakan 24 jam lagi).
- Setelah waktu pembiakan kuman selesai, jumlah koloni kuman yang tumbuh dihitung dengan menggunakan Colony Counter.

(2). Cara menghitung angka koloni kuman pada media agar:

- Hidupkan Colony Counter
- Tempatkan media agar dengan posisi terbalik pada display dan hidupkan lampu
- Pasang kabel detector pada coloni counter.
- Hidupkan kalkulator
- Hitung koloni kuman yang tumbuh dengan cara menekan ujung detektor pada agar strip.
- Jumlah koloni kuman yang terbentuk pada agar strip dapat dibaca pada kalkulator.

(3). Menghitung jumlah koloni kuman, gunakan rumus:

$$KK/m^3 = \frac{\text{koloni kuman pada agar strip}}{40 \text{ lt X waktu (menit)}} \times 1000 \text{ liter}$$

Keterangan :

KK = Jumlah Koloni kuman yang terbentuk

40 ltr = kemampuan alat untuk menghisap udara selama 1 menit adalah sebanyak 40 liter.

2). Metode Tuang (Pour Plate).

a) Persiapan

- Periksa battery melalui indikator flowrate (tingkat akhir) 2,0 Lpm (liter/menit) apabila indikator kisaran naik turun 0,2 Lpm perlu diganti battery
 - Isi impinger dengan larutan fisiologis NaCl 0,9% sebanyak 10 ml.
 - Tutup tabung impinger dengan rapat jangan sampai terdapat gelembung.
 - Sterilisasi tabung impinger yang sudah berisi reagen penyerap dengan sterilisasi basah pada suhu 121°C, selama 15 menit
 - Tempatkan impinger pada badan alat.
- b) Pelaksanaan
- Impinger yang telah berisi larutan fisiologis NaCl 0,9% dihubungkan dengan flow meter
 - Hidupkan alat dan atur flow meter 1-2 lpm.
 - Baca dan catat flowmeter pada skala indikator.
 - Lakukan pengambilan sampel selama 15 – 30 menit, sesuai dengan kondisi kebersihan ruang.
 - Matikan alat dan lepaskan impinger dari badan alat.
 - Masukkan sampel dalam cool box dan dikirim ke laboratorium.
- c) Metode analisis
- Siapkan 5 petridish steril.
 - tuangkan sampel ke dalam 4 petridis steril masing-masing 1 ml
 - pada petridis ke 5 digunakan sebagai kontrol (tanpa sampel).
 - pada ke 5 petridis masing-masing tuangkan media agar (Plate Count Agar) sebanyak 10 - 15 ml dalam suhu 46 – 50°C.
 - goyangkan ke 5 petridis secara perlahan agar bercampur merata.
 - Diamkan petridish yang berisi sampel sampai membeku. Kemudian masukan ke dalam inkubator pada suhu 35°C selama ± 24 - 48 jam dengan posisi petridis terbalik.
 - Koloni yang tumbuh dihitung pada Coloni Counter.

Perhitungan:

$$R \text{ (koloni/ml)} = \frac{(a-e) + (b-e) + (c-e) + (d-e)}{4}$$

$$JK = \frac{R \times V \times 1000/M^3}{Q \times t}$$

Keterangan :

JK = Jumlah Kuman

R = Jumlah koloni rata-rata

V = larutan fisiologis (ml)

- Q = Debit aliran udara (L/menit)
- t = Lamanya waktu pengambilan sampel (menit)
- a-d = Jumlah kuman di petridis a,b,c dan d
- e = Jumlah kuman pada petridis e (kontrol)

MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA,
Ttd.
Dr. ACHMAD SUJUDI