**Metode pengujian faktor biologi**

**di udara tempat kerja**

Daftar isi

[Daftar isi i](#_Toc113354641)

[Prakata ii](#_Toc113354642)

[Pendahuluan iii](#_Toc113354643)

[1 Ruang lingkup 1](#_Toc113354644)

[2 Acuan normatif 1](#_Toc113354645)

[3 Istilah dan definisi 1](#_Toc113354646)

[4 Prinsip 3](#_Toc113354647)

[5 Persyaratan 3](#_Toc113354648)

[6 Metode pengujian 3](#_Toc113354649)

[7 Jaminan mutu 1](#_Toc113354653)3

[Lampiran A (normatif) Tabel waktu dan suhu penyimpanan media agar](#_Toc113354656) 14

[Lampiran B (normatif) Tabel konversi *Feller* untuk *single sieve impaction air sampler*](#_Toc113354656) 15

[Lampiran C (normatif) Contoh formulir hasil pengujian faktor biologi 1](#_Toc113354657)7

[Bibliografi 1](#_Toc113354659)8

[Tabel 1 – Contoh morfologi koloni bakteri 12](#_Toc113356797)

[Tabel 2 – Contoh morfologi koloni jamur 13](#_Toc113356798)

[Gambar 1 Skema alat *impingement* danaliran udara dalam *impingement*...........................](#_Toc113356769)4

[Gambar 2 Skema aliran udara pada](#_Toc113356770) *[single stage Andersen impactor](#_Toc113356770)* [.................................5](#_Toc113356770)

Gambar 3 Skema aliran udara pada s*ix stage Andersen impactor* .................….............….6

Gambar 4 Skema aliran udara pada alat *slit impactor* *sampler*.................…....................….6

Gambar 5 Skema aliran udara pada alat *Centrifugal impactor sampler*.........................…...7

Gambar 6 Skema aliran udara pada alat *filtration air sample*r.................…..........................8

Gambar 7 Skema peletakan fliter pada alat *filtration air sampler*...................….................. 8

Prakata

SNI 9099:2024, *Metode pengujian faktor biologi di udara tempat kerja,* yang dalam Bahasa Inggris berjudul *Air sampling method of biological factors in the workplace*, merupakan standar revisi dari SNI 9099:2022, *Metode pengujian faktor biologi di udara tempat kerja*. Standar ini disusun dengan jalur pengembangan sendiri dan ditetapkan oleh BSN tahun 2024.

Perubahan dalam standar ini meliputi:

1. Penyempurnaan penulisan dan gambar dengan tidak mencantumkan merek dagang;
2. Penyempurnaan metode pengujian aktif;
3. Penambahan lampiran A tentang waktu dan suhu penyimpanan media agar untuk memudahkan penggunaan media agar;
4. Penggantian lampiran A pada SNI 9099:2022 tentang Penggunaan tabel *Feller* untuk *six stage Andersen sampler* menjadi lampiran B penggunaan tabel *Feller* untuk *single stage Andersen sampler* dengan tutup berlubang sebanyak 300 lubang dan 400 lubang;
5. Perubahan pada formulir hasil pengujian faktor biologi.

Standar ini disusun oleh Komite Teknis 13-01, Keselamatan dan Kesehatan Kerja. Standar ini telah dibahas melalui rapat teknis dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 7 Februari 2024 di Jakarta, yang dihadiri oleh para pemangku kepentingan (*stakeholders*) terkait, yaitu perwakilan dari pemerintah, pelaku usaha, konsumen, dan pakar. Standar ini telah melalui tahap jajak pendapat pada tanggal 5 April 2024 sampai dengan 4 Mei 2024 dengan hasil akhir disetujui menjadi SNI.

Dalam standar ini digunakan kosa kata yang mempunyai maksud tertentu, yaitu:

* “harus” yang artinya disyaratkan.

Untuk menghindari kesalahan dalam penggunaan Standar ini, disarankan bagi pengguna standar menggunakan dokumen SNI yang dicetak dengan tinta berwarna (dapat mencantumkan kode tingkat warna *Red Green Blue* (RGB), atau kode tingkat warna *Cyan Magenta Yellow Black* (CMYK), atau kode tingkat warna lain jika diperlukan untuk cetak gambar dengan warna yang lebih akurat).

Perlu diperhatikan bahwa kemungkinan beberapa unsur dari Standar ini dapat berupa hak kekayaan intelektual (HAKI). Namun selama proses perumusan SNI, Badan Standardisasi Nasional telah memperhatikan penyelesaian terhadap kemungkinan adanya HAKI terkait substansi SNI. Apabila setelah penetapan SNI masih terdapat permasalahan terkait HAKI, Badan Standardisasi Nasional tidak bertanggung jawab mengenai bukti, validitas, dan ruang lingkup dari HAKI tersebut.

Pendahuluan

Metode pengujian faktor biologi di udara tempat kerja yang dimaksudkan dalam standar ini adalah metode atau cara pengujian faktor biologi, khususnya untuk jumlah bakteri dan jamur meliputi persiapan, pelaksanaan pengujian serta pelaporannya.

Standar ini digunakan sebagai bahan acuan dalam mengidentifikasi bahaya biologi, menilai tingkat pajanan biologi serta menjadi pertimbangan dalam mengembangkan dan menerapkan pengendalian yang efektif sesuai dengan ketentuan peraturan perundangan tentang keselamatan dan kesehatan kerja lingkungan kerja.

Hasil pengujian faktor biologi di udara tempat kerja dapat digunakan untuk identifikasi potensi gangguan kesehatan dan perlindungan tenaga kerja akibat jumlah bakteri dan jamur di udara tempat kerja.

Standar ini mencakup ruang lingkup, acuan normatif, istilah dan definisi, simbol, satuan dan singkatan, persyaratan, metode pengujian, peralatan yang digunakan, prosedur pengujian, perhitungan hasil pengujian, interpretasi hasil pengujian, rekomendasi dan pelaporan pengujian. SNI ini juga dilengkapi dengan lampiran berupa formulir untuk melakukan pencatatan hasil pengujian faktor biologi.

**Metode pengujian faktor biologi di udara tempat kerja**

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode pengujian faktor bahaya biologi di udara tempat kerja. Faktor bahaya biologi pada standar ini adalah mikroba di udara tempat kerja, yaitu jumlah bakteri dan jamur (kapang dan khamir). Selain itu untuk interpretasi hasil pengujian, dilakukan pengukuran faktor pendukung yaitu intensitas pencahayaan, suhu dan kelembapan udara. Dengan mengetahui jumlah mikroba di udara tempat kerja dapat dilihat bagaimana kualitas udara di tempat kerja tersebut.

2 Acuan normatif

Dokumen berikut, baik sebagian atau keseluruhan, menjadi acuan normatif dan dibutuhkan untuk penerapan standar ini. Untuk acuan bertanggal, hanya edisi yang dikutip berlaku. Untuk acuan yang tidak bertanggal, edisi terbaru dari dokumen yang dimaksud berlaku (termasuk amandemen).

ISO 16000-16:2008, *Detection and enumeration of moulds — Sampling by filtration*

ISO 16000-17:2008, *Detection and enumeration of moulds — Culture-based method*

ISO 16000-18:2011, *Detection and enumeration of moulds — Sampling by impaction*

3 Istilah dan definisi

Untuk keperluan standar ini, digunakan istilah dan definisi berikut.

**3.1**

**angka mikroba di udara**

jumlah dari hasil uji mikroba di udara suatu ruangan atau tempat tertentu untuk mengetahui jumlah bakteri dan jamur pada contoh uji yang dinyatakan dalam CFU/m3

**3.2**

**autoklaf**

alat untuk mensterilisasi peralatan dan/atau bahan uji dengan menggunakan uap bersuhu 121 °C dan bertekanan tinggi 15 lbs/in2. Waktu sterilisasi selama 15 menit dihitung setelah suhu autoklaf mencapai 121 °C

**3.3**

***blue ice/ice gel***

gel penjaga suhu dingin yang dikemas dalam wadah berbentuk khusus dimasukkan ke dalam *ice box*

**3.4**

**cawan petri**

alat gelas laboratorium yang berbentuk lingkaran silindris, yang digunakan untuk tempat perkembangbiakan mikroba atau sel

**3.5**

**penghitung koloni (*colony counter)***

alat yang digunakan untuk menghitung koloni bakteri dan jamur yang ditumbuhkan pada media biakan yang disimpan dalam cawan petri

**3.6**

**higrometer**

alat yang digunakan untuk mengukur kelembapan, hasil pengukurannya menggunakan format digital maupun analog

**3.7**

**kotak pendingin (*ice box)***

kotak yang bisa menjaga suhu dingin (< 10 °C) untuk menyimpan dan membawa media agar

**3.8**

**inkubator**

alat yang digunakan untuk menginkubasi media biakan sesuai dengan suhu pertumbuhannya

**3.9**

***laminar air flow***

alat yang digunakan untuk mengalirkan udara bersih secara terus-menerus, agar wilayah kerja terbebas dari debu, kotoran, spora dan partikel lainnya yang tidak diinginkan

**3.10**

**media biakan**

bahan yang mengandung nutrisi yang diperlukan mikroba untuk pertumbuhannya

**3.11**

**media agar TSA**

media *Trypticase/Tryptone/Tryptic Soy Agar* (TSA) merupakan media biakan sintetik yang digunakan untuk mengamati pertumbuhan isolat bakteri yang bersifat aerob dan anaerob

**3.12**

**media agar MEA**

media *Malt Extract Agar* (MEA) merupakan media biakan sintetik yang digunakan untuk mengamati pertumbuhan isolat jamur

**3.13**

**oven**

alat pemanas yang digunakan dalam proses sterilisasi alat dengan suhu kering yang diatur pada 160 °C sampai dengan 170 °C

**3.14**

**perhitungan cawan**

metode perhitungan untuk memperkirakan jumlah mikroba yang masih hidup pada suatu contoh uji

**3.15**

**pH meter**

alat yang digunakan untuk mengukur derajat keasaman (pH) suatu larutan, apakah larutan tersebut tergolong asam, basa atau netral

**3.16**

**serial pengenceran larutan**

proses pengenceran bertingkat suatu larutan dengan faktor pengenceran tertentu yang bertujuan untuk mengurangi konsentrasi larutan sampel

**3.17**

**sterilisasi**

suatu proses untuk memusnahkan semua jenis mikroba hidup yang terdapat dalam alat dan/atau bahan

**3.18**

**termometer**

alat yang digunakan untuk mengukur suhu pada suatu area tertentu, hasil pengukurannya menggunakan format digital maupun analog

**3.19**

**tripod**

alat penyangga pengambil contoh uji yang terdiri atas tiga buah kaki

4 Simbol, satuan dan singkatan

o C: derajat Celcius

RH : *Relatif Humidity*, kelembapan relatif dengan satuan %

CFU/m3 : *Colony Forming Unit*, digunakan untuk menghitung jumlah mikroba yang hidup dan menghasilkan 1 koloni dalam setiap meter kubik

IMA : *Index of Microbial Air Contamination*

CFUpr : C*olony Forming Unit* berdasarkan table statistic kemungkinan partikel viabel

5 Persyaratan

Secara spesifik, kondisi yang menyebabkan jumlah bakteri dan jamur di udara tempat kerja memenuhi atau bahkan melebihi standar adalah suhu, RH, dan aliran udara.

6 Metode pengujian

Prinsip pengujian ini menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media agar *s*etelah masa inkubasi. Jumlah koloni yang tumbuh dari hasil perhitungan tersebut merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah dalam suspensi tersebut untuk dikonversi dalam satuan CFU/m2/h (metode pasif) dan *colony forming unit* per meter kubik (CFU/m³) (metode aktif).

1. Pengambilan contoh uji dengan metode pasif

Metode pengambilan udara secara pasif dilakukan dengan cara meletakkan cawan agar (*setting plates)*. Prinsip metode ini adalah dengan meletakkan cawan petri berisi media agar pada lokasi tempat kerja, dimana partikel di udara dibiarkan mengendap di cawan selama waktu tertentu. Metode ini hanya digunakan pada area kerja yang aseptik dan aliran udara tenang (0,1 m/s sampai dengan 0,3 m/s). Keuntungan dari penggunaan metode ini adalah ekonomis, namun memiliki kelemahan, yaitu hanya mengukur jumlah mikroorganisme yang menetap di permukaan cawan selama waktu sampling. Hasil pengujian pasif dan aktif tidak dapat dibandingkan.

1. Pengambilan contoh uji dengan metode aktif

Metode pengambilan udara secara aktif adalah dengan menarik udara bergerak memasuki suatu alat untuk menangkap partikel yang terkandung didalamnya. Pengumpulan contoh uji secara aktif terdiri dari tiga prinsip yaitu *impingement*, *impaction*, dan *filtration*.

1. *Impingement* (penumbukan pada cairan)

Dasar teknik ini adalah dengan menangkap partikel udara saat udara dilewatkan dalam cairan (Lihat Gambar 1). Alat yang digunakan adalah botol penjerap yang umumnya beroperasi pada debit aliran 12,5 l/min dengan 20 ml cairan pengumpul (contohnya : 0,1% *pepton solution*, 0,1% *buffered gelatin solution,* atau 0,1% *phospate buffer solution*)selama 20 menit. Aliran udara berkecepatan tinggi yang diarahkan ke cairan dapat menimbulkan adukan yang cukup besar dan menghasilkan busa. Bahan tambahan pada cairan pengumpul seperti protein, *antifoam*, atau *antifreeze* mencegah pembentukan busa dan hilangnya cairan pengumpul, serta meminimalkan cedera pada sel. Keuntungan metode ini adalah penggunaan media cairan sehingga terhindar dari kekeringan, dan kelemahannya bergantung pada waktu pengambilan sampel. Pengambilan sampel yang lebih lama mengakibatkan terlalu banyak penguapan cairan di dalam botol penjerap, dan inaktivasi atau kematian mikroorganisme di dalam cairan.

|  |
| --- |
| a  Diagram of a chemical reaction  Description automatically generated  4 |

**Keterangan:**

1. = Pompa *sampler*
2. = Labu perangkap
3. = Botol Penjerap
4. = Larutan pengumpul

a = Udara masuk

**Gambar 1** — **Skema alat *impingement* dan aliran udara dalam *impingement***

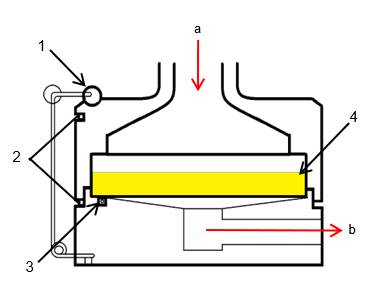
1. *Impaction* (penumbukan pada permukaan padat)

Dasar teknik *impaction* adalah dengan menempelkan partikel udara pada permukaan padat dengan cara menumbukkannya. Teknik ini biasanya menggunakan media biakan berupa agar padat sebagai substrat langsung penempelan partikel udara. Alat yang digunakan adalah *impact* *sampler*. Metode ini dapat digunakan pada *sieve impactor*, *slit impactor* (khusus untuk jamur), dan *centrifugal impactor*.

- *Sieve impactor*

Pada alat *sieve* (saringan/ayakan) *impactor,* udara akan ditarik masuk ke dalam pelat berlubang dengan diameter yang ditentukan dan partikel tersebut ditumbukkan ke permukaan agar yang telah dipasang di bawah (Lihat Gambar 2). Alat ini dapat dioperasikan sebagai tumpukan dengan saringan yang berbeda yang mengarah ke kecepatan aliran yang berbeda untuk mengumpulkan fraksi ukuran partikel yang berbeda (pada *six stage Andersen impactor*) (Lihat Gambar 3). Data validasi hanya tersedia untuk *single stage sieve impactors* (terutama dengan > 300 lubang) yang menggunakan cawan berdiameter 9 cm.

a



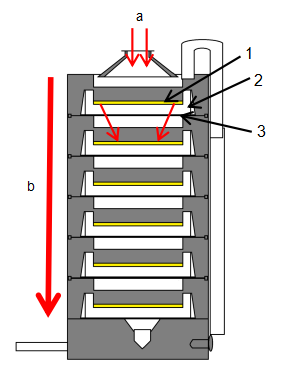
**Keterangan:**

1. = Klem
2. = Cincin penyegel
3. = Perangkat untuk cawan petri
4. = Cawan petri dengan media agar

a = Udara masuk

b = Udara keluar

**Gambar 2** — **Skema aliran udara pada *single stage Andersen impactor***



**Keterangan:**

1. = Media agar
2. = Cawan petri
3. = Ayakan (*sieve)*

a = Udara masuk

b = Kumpulan penurunan ukuran partikel

**Gambar 3** — **Skema aliran udara pada *six stage Andersen impactor***

* *Slit impactor*

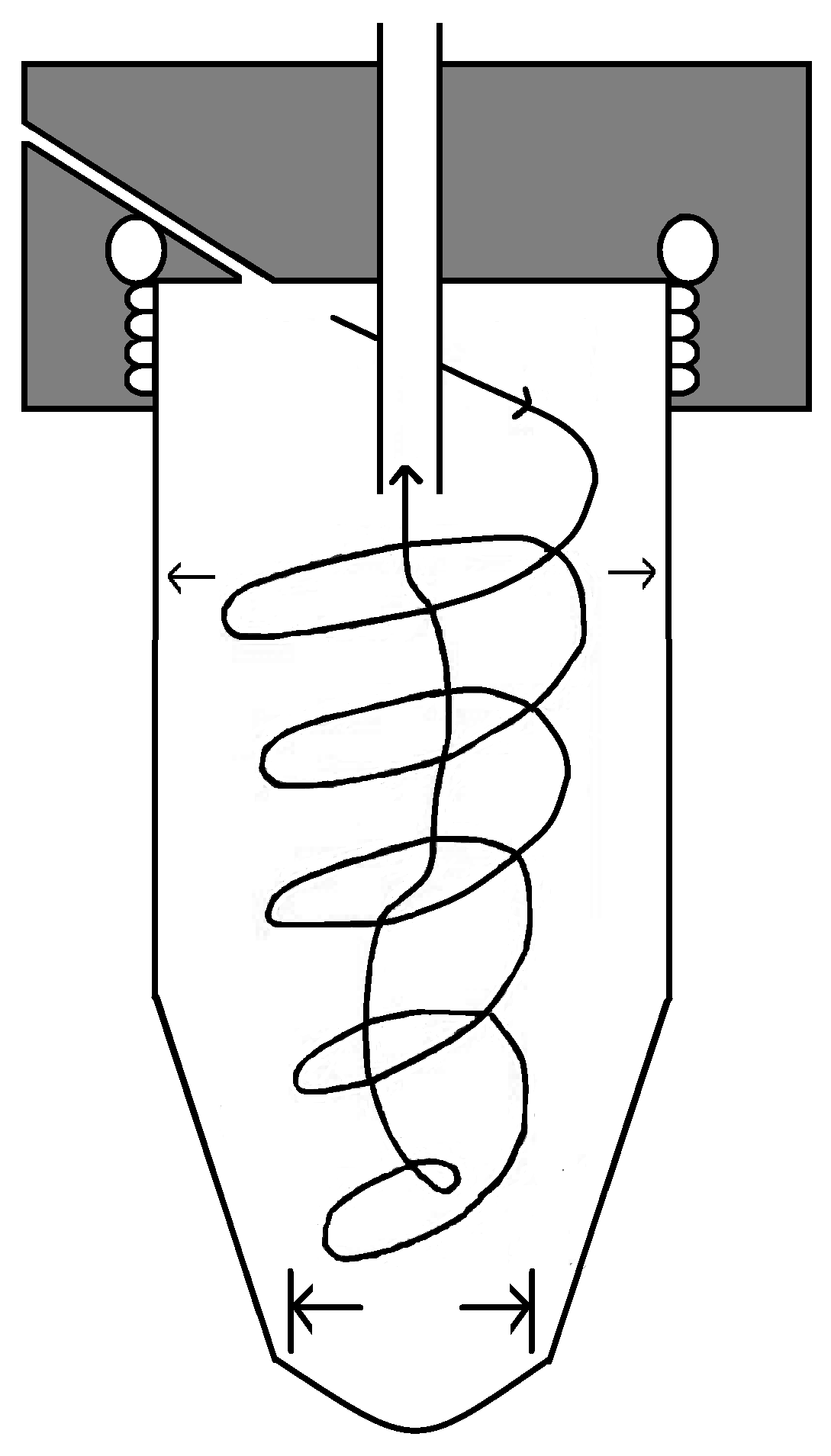
udara dihisap dengan pompa, dan masuk melalui celah sempit pada *slit* *impactor* dan partikel udara ditumbukan pada cawan agar yang berputar (Lihat Gambar 4).

|  |
| --- |
| **Gambar 6**  **Keterangan:**   1. = *Slit* 2. = Cawan petri   a = Udara masuk  **Gambar 4** — **Skema aliran udara alat *slit impactor*** |

- *Centrifugal impactor*

*Centrifugal impactor* menggunakan pola aliran udara berputar yang dapat meningkatkan tarikan gravitasi di dalam perangkat pengambilan contoh uji untuk menyimpan partikel (Lihat Gambar 5). Alat yang menggunakan metode ini adalah *Cyclone air sampler*, *Coriolis air sampler* dan RCS (*Reuter Centrifugal Air Sampler*).

a



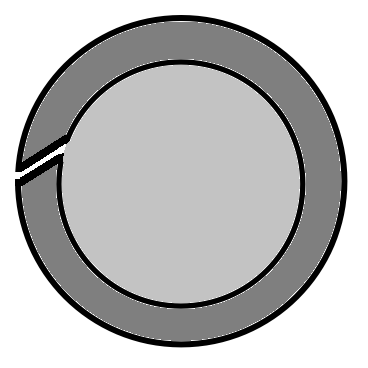
1

b

2

3

c



4

a

1

**Keterangan:**

1. = *Cyclone attachment*
2. = O-ring
3. = Ulir
4. = *Microcentrifuge tube*

a = Udara masuk

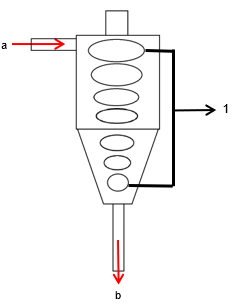
b = Udara keluar

c = Arah aliran udara

**Gambar 5** — **Skema aliran udara pada *centrifugal impactor sampler***

1. Filtration (penyaringan)

Metode ini menggunakan prinsip menyaring partikel udara berdasarkan ukurannya menggunakan filter dalam bentuk kaset yang biasanya berdiameter 25 mm, 37 mm atau 47 mm (Lihat Gambar 6). Untuk pengambilan contoh uji jamur menggunakan filter gelatin yang menghasilkan efisiensi tinggi. Filter polikarbonat digunakan dibawah filter gelatin untuk meningkatkan stabilitas (Lihat Gambar 7). Filter lainnya dapat digunakan apabila telah terbukti memiliki *relative recovery* sekurang-kurangnya 90% dari filter gelatin.



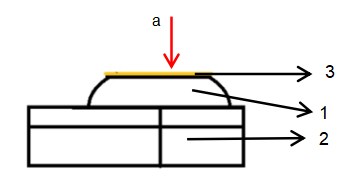
**Keterangan:**

1. = Filter

a = Udara masuk

b = Udara keluar

**Gambar 6** — **Skema aliran udara pada *filtration air sampler***



**Keterangan:**

1. = *Mounting filter*
2. = Badan alat
3. = Filter gelatin

a = Udara masuk

**Gambar 7** — **Skema peletakan filter pada alat *filtration air sampler***

**6.2 Peralatan**

**6.2.1 Peralatan pembuatan media agar**

Alat dan bahan yang dipersiapkan untuk pembuatan media agar sebagai berikut:

1. Alat
   * Cawan petri
   * Pipet ukur
   * Lampu bunsen
   * Neraca analitik
   * Erlenmeyer
   * Inkubator
   * Labu semprot
   * *Beaker Glass*
   * *Hot plate*
   * Oven
   * Autoklaf
   * *Laminar Air flow*
   * Ph meter
2. Bahan
   * Media agar TSA dan Media agar MEA
   * Alkohol 70%
   * Aquades

**6.2.2 Peralatan dan bahan pengambilan contoh uji**

Alat yang dipersiapkan untuk pengambilan contoh uji berbeda-beda, bergantung pada pengumpulan contoh uji udara secara aktif yaitu *impingement, impaction,* dan *filtration*.

**6.3 Prosedur**

**6.3.1 Pembuatan media agar**

Berikut ini adalah langkah-langkah pembuatan media agar:

* + - * 1. Mencuci cawan petri.
        2. Mensterilkan cawan petri.
        3. Meletakkan cawan petri di oven, setelah kering dikeluarkan.
        4. Menunggu hingga cawan mencapai suhu ruang.
        5. Menimbang bubuk media agar sesuai yang diperlukan dalam labu erlenmeyer. Jumlah media agar yang diperlukan sesuai dengan komposisi dalam petunjuk penggunaan dari produsen media agar.
        6. Melarutkan media agar dalam akuades dengan cara diaduk sambil dididihkan.
        7. Mensterilkan media agar di autoklaf pada suhu 121 ᴼC selama 15 menit.
        8. Menunggu suhu media agar hingga mencapai 44 °C sampai dengan 46 °C. pada suhu ini zat penetral (contoh antibiotik) dapat ditambahkan pada media agar.
        9. Mengecek pH media, pH media perlu diatur sesuai petunjuk penggunaan media agar.
        10. Menuangkan media agar pada cawan petri sebanyak 20 ml yang dilakukan dalam *laminar air flow.*
        11. Mendiamkan media agar sampai membeku.
        12. Media agar siap digunakan.
        13. Jika belum digunakan media agar dapat disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu dan waktu penyimpanan yang sesuai dengan media agar (Lampiran A).

**CATATAN 1** Media agar, antibiotik, dan anti jamur lain dapat digunakan jika sesuai dan teruji, misalnya agar dikloran gliserol (DG18) untuk *xerophilic molds*, agar Reasoner’s 2A (R2A) untuk bakteri heterotrof, dan agar *rose bengal* untuk jamur yang tumbuh lambat seperti *Stachybotrys,* dan PDA (*Potato Dextrose Agar*).

**CATATAN 2** Perlu ada penambahan *chloramphenicol, streptomycin/ampicilin* pada media agar untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan penambahan *cycloheximide* pada media agar untuk menghambat pertumbuhan jamur.

**6.3.2 Pengujian**

* + - 1. **Pengujian Pasif**

1. Menentukan titik sampling.
2. Membersihkan tangan dengan pembersih anti mikrobial.
3. Meletakkan cawan petri berdiameter 9 cm berisi media agar dengan ketentuan sekurang kurangnya dua sampel di area kerja dengan ketinggian 1 m di atas lantai dan berjarak 1 m dari tembok/penghalang dengan waktu sampling selama 1 jam.
4. Mengambil cawan petri kemudian diberi label dengan keterangan: tanggal dan waktu pengambilan, lokasi/ tempat, dan kode contoh uji.
5. Membungkus cawan petri dengan rapat menggunakan plastik *wrap*. Jika ada mobilisasi, maka cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam *ice box* yang berisi *blue ice/ice gel.*
6. Membawa *ice box* berisi cawan petri ke laboratorium, paling lambat selama 48 jam (setiap penundaan harus dicatat untuk menjamin keabsahan hasil).
7. Mengeluarkan cawan petri dari *ice box* setelah sampai di laboratorium dan masukan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik untuk bakteri dengan suhu 30 °C sampai dengan 35 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dan posisi menghadap atas untuk jamur dengan suhu (25 ± 3) °C selama 5 hari sampai dengan 7 hari).
8. Menghitung koloni dengan alat penghitung koloni.

**6.3.2.2 Pengujian Aktif**

1. *Impingement*
   1. Menentukan titik sampling.
   2. Membersihkan tangan dengan pembersih anti mikrobial.
   3. Menyiapkan peralatan pengambilan sampel. Sebelum digunakan, botol penjerap dan labu perangkap disterilkan.
   4. Hubungkan botol penjerap dengan pompa dan labu perangkap.
   5. Menghubungkan botol penjerap dengan tripod atau alat penyangga lainnya agar mencapai tinggi yang sesuai dengan posisi bekerja dominan (posisi duduk: 0,75 m sampai dengan 1,2 m dan posisi berdiri : 1,2 m sampai dengan 1,5 m) dari lantai.
   6. Mengondisikan larutan pengumpul pada suhu ruang sebelum digunakan.
   7. Menambahkan 20 ml larutan pengumpul ke botol penjerap lalu ditambahkan 0,1 ml *antifoam*.
   8. Menghidupkan pompa selama 10 menit sampai dengan 30 menit denganlaju alir12,5 l/min.
   9. Mematikan pompa, lalu masukkan larutan ke dalam botol dan beri tanda, kemudian simpan di kotak pendinginyang berisi *blue ice/ice gel*.
   10. Membawa kotak pendingin ke laboratorium paling lama selama 48 jam (setiap penundaan harus dicatat untuk menjamin keabsahan hasil).
   11. Menganalisis hasil pengujian dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:
2. Inokulasikan 0,1 ml sampai dengan 1 ml sebagian cairan (atau serial pengenceran larutan) menggunakan teknik cawan sebar.
3. Lewatkan 6 ml sampai dengan 10 ml larutan yang dikumpulkan ke membran filter berukuran 0,45 µm. Kemudian membran filter ditempatkan dalam cawan petri steril yang berisi media agar yang sesuai.
   1. Menginkubasi cawan dengan posisi terbalik untuk bakteri dengan suhu 30 °C sampai dengan 35 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dan posisi cawan menghadap atas untuk jamur dengan suhu (25 ± 3) °C selama 5 hari sampai dengan 7 hari).
   2. Menghitung koloni dengan alat penghitung koloni.
4. *Impaction*
   1. Menentukan titik sampling.
   2. Membersihkan tangan dengan pembersih anti mikrobial.
   3. Menyiapkan peralatan pengambilan sampel. Alat pengambilan sampel dapat disterilisasi dengan cara diusap menggunakan alkohol 70%.
   4. Meletakkan alat pengambil sampel agar mencapai tinggi yang sesuai dengan posisi bekerja dominan (posisi duduk: 0,75 m sampai dengan 1,2 m dan posisi berdiri: 1,2 m sampai dengan 1,5 m) dari lantai.
   5. Membuka tutup berlubang dan letakkan cawan petri pada alat pengambil sampel, lalu tutup.
   6. Menyalakan alat pengambil sampel selama waktu tertentu (pada umumnya 1 menit sampai dengan 10 menit) dengan laju alir tertentu, tergantung pada tipe alat pengambil sampel. Catat laju alir.
   7. Memberi label pada cawan petri dengan keterangan: tanggal dan waktu pengambilan, lokasi/ tempat, dan kode contoh uji.
   8. Membungkus cawan petri dengan rapat menggunakan *plastik wrap*. Jika ada mobilisasi, maka cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam kotak pendingin yang berisi *blue ice/ice gel.*
   9. Membawa kotak pendingin berisi cawan petri ke laboratorium paling lama selama 48 jam (setiap penundaan harus dicatat untuk menjamin keabsahan hasil).
   10. Mengeluarkan cawan petri dari *ice box* setelah sampai di laboratorium dan dimasukan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik (untuk bakteri dengan suhu 30 °C sampai dengan 35 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam, dan posisi menghadap atas untuk jamur dengan suhu (25 ± 3) °C selama 5 hari sampai dengan 7 hari).
   11. Menghitung koloni dengan alat penghitung koloni.
5. *Filtration*
   1. Menentukan titik sampling.
   2. Membersihkan tangan dengan pembersih anti mikrobial.
   3. Menyiapkan alat pengambil sampel. Filter dan kaset disterilisasi terlebih dahulu (filter di autoklaf dan kaset diusap dengan alkohol 70%).
   4. Meletakan filter di dalam kaset, sambungkan kaset dengan pompa.
   5. Meletakan pompa dengan kaset dengan tripod atau alat penyangga lainnya agar mencapai tinggi yang sesuai (contohnya: 0,75 m sampai dengan 1,5 m dari lantai).
   6. Menyalakan pompa selama 30 menit sampai beberapa jam dengan laju alir tertentu, bergantung pada tipe alat pengambil sampel. Catat laju alir.
   7. Melepaskan filter dari kaset, filter diletakkan dalam wadah tertutup lalu disimpan di *ice box* yang berisi *blue ice/ice gel.*
   8. Membawa *ice box* ke laboratorium paling lama selama 48 jam (diusahakan dalam 24 jam, setiap penundaan harus dicatat untuk menjamin keabsahan hasil).
   9. Memindahkan filter ke labu berisi 5 ml larutan garam NaCl 0,9% dengan *polysorbate* 80.
   10. Menghangatkan labu dengan filter di dalam penangas air sambil digoyangkan pada suhu 35 °C sampai dengan 40 °C selama 15 menit.
   11. Membuat serial pengenceran larutan (1:10, 1:100, dan 1:1.000).
   12. Meletakan 0,1 ml hasil pengenceran larutan pada media agar. Buat masing - masing dua media agar pada tiap serial pengenceran larutan.
   13. Inkubasi media agar di dalam inkubator dengan posisi terbalik untuk bakteri pada suhu 30 °C sampai dengan 35 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam, dan posisi menghadap atas untuk jamur dengan suhu (25 ± 3) °C selama 5 hari sampai dengan 7 hari).
   14. Menghitung koloni dengan alat penghitung koloni.

**CATATAN**  Jika menurut protokol pengambilan sampel, konsentrasi jamur diperkirakan rendah, 1 ml larutan dapat ditempatkan pada media agar (250 μl per cawan) untuk meningkatkan sensitivitas metode.

* + 1. **Pembacaan dan perhitungan hasil**

Sebagai tahap akhir pengujian, dilakukan pembacaan dan perhitungan hasil sebagai berikut:

1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan alat penghitung koloni.
2. Koloni-koloni yang tumbuh diamati dan dicatat. Morfologi koloni bakteri dan jamur dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1 – Contoh morfologi koloni bakteri

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Morfologi**  **koloni bakteri** | **Gambar** | **Keterangan** |
| 1 | Bentuk koloni | C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.39.08.jpeg | *circular* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.39.08.jpeg | *irregular* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.39.08.jpeg | *rizoid* |
| 2 | Tepi koloni | C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.39.08.jpeg | *entire* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.39.45.jpeg | *undulate* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.39.45.jpeg | *lobate* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 21.23.25.jpeg | *curled* |
| 3 | Elevasi | C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.40.21.jpeg | *flat* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.40.21.jpeg | *raised* |
| C:\Users\SUTARTO\Downloads\WhatsApp Image 2022-07-27 at 20.40.21.jpeg | *convex* |

Tabel 2 – Contoh morfologi koloni jamur

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Morfologi koloni jamur** | **Keterangan** |
| 1 |  | Kapang: Tampak benang-benang hifa |
| 2 |  | Khamir:  Koloni bulat, cembung, basah, tampak terbentuk *budding* |

**6.3.3.1 Pasif**

Setelah pengambilan contoh uji dilakukan, dan waktu inkubasi terpenuhi, dihitung jumlah mikroba (jamur dan bakteri) yang ada pada media agar dengan alat penghitung koloni. Metode pasif telah distandarisasi dan berdasarkan Indeks Mikroba Udara kontaminasi (IMA). perhitungan IMA menunjukkan jumlah CFU yang dihitung pada cawan petri yang dibiarkan terbuka ke udara sesuai skema 1/1/1 (selama 1 jam, 1 m di atas lantai dan sekitar 1 m jauh dari tembok/penghalang). IMA dapat dinyatakan juga sebagai CFU/m2/jam.

**6.3.3.2 Aktif**

Setelah dilakukan pengambilan sampel, kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni:

1. ***Impingement***

Perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan memperhatikan hasil perhitungan berikut:

(1)

Jumlah koloni (CFU) = Jumlah koloni dalam volume udara yang di sampling (CFU/ml) × sisa

volume yang ada di botol penjerap

(2)

Volume Udara (L) = lama pengambilan sampel (menit) × 12,5 L/menit

(3)

Volume Udara (m3) =

Lalu dihitung konsentrasi mikroorganisme di udara dengan rumus :

(4)

**B. *Sieve impactor*, *Slit impactor* dan *Centrifugal impactor***

Perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan memperhatikan hasil perhitungan berikut :

* Volume Udara (m3):

(5)

**Keterangan:**

Q = laju aliran udara (lpm)

t = lama pengambilan sampel (menit)

1000 = konversi liter ke meter kubik

* Jumlah koloni (CFU)

(6)

Penggunaan tabel *Feller* pada lampiran dilakukan untuk konversi jumlah mikroorganisme secara statistik

**C*. Filtration***

Pertama-tama dilakukan pengukuran volume udara yang dijadikan sampel (m3) dengan rumus :

(7)

**Keterangan:**

VS = Volume udara total (ml)

n*p* = Jumlah cawan yang digunakan

V*t* = Volume yang diuji (ml)

f*d* = Faktor dilusi larutan (contoh: f*d* = 0,1, jika dilusi larutan 1:10)

Lalu dihitung jumlah mikroorganisme pada larutan dalam ml dengan rumus :

(8)

**Keterangan:**

C*s* = Jumlah mikroorganisme pada larutan dalam ml

V*S* = Volume udara total (ml)

*n*CFU = Jumlah total koloni mikroorganisme pada cawan agar

Lalu dihitung jumlah mikroorganisme pada larutan dalam m3 dengan rumus :

(9)

**Keterangan:**

CF = Jumlah mikroorganisme (CFU/m3)

Cs = Jumlah mikroorganisme pada larutan (ml)

V*f* = Volume larutan garam yang digunakan (ml)

V*l* = Volume udara yang disampling

**6.3.4 Interpretasi hasil pengujian**

Interpretasi hasil pengujian dimaksudkan untuk membandingkan jumlah mikroba (jamur dan bakteri) dengan nilai standar sesuai dengan regulasi. Interpretasi hasil pengujian dilakukan dengan memperhatikan suhu, kelembapan dan aliran udara.

7 Jaminan mutu

Jaminan mutu merupakan bagian penting dalam menghasilkan data lapangan yang dapat dipertanggungjawabkan. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam jaminan mutu adalah sebagai berikut:

* Dilakukan oleh petugas yang kompeten dan berwenang.
* Pada saat pengambilan contoh uji perlu diperhatikan untuk tidak menggunakan media agar yang telah terkontaminasi, retak, kering atau kadaluarsa.
* Diperlukan 5 media blanko laboratorium untuk setiap pengambilan sampel.
* Diperlukan 1 media blanko lapangan untuk setiap 10 sampel, dengan jumlah maksimal 10 blanko lapangan untuk setiap lokasi pengambilan sampel
* Diperlukan 1 media blanko perjalanan untuk untuk setiap pengambilan sampel untuk memastikan ada tidaknya kontaminasi selama perjalanan.
* Pengambilan contoh uji di area kerja dilakukan minimal duplo jika ada laporan kasus gangguan kesehatan akibat pajanan faktor biologi di udara tempat kerja.
* Pengecekan alat pengambil sampel secara berkala sebelum pengujian dilakukan untuk memastikan pengambilan contoh uji yang konsisten.
* Analisis dilakukan sesuai dengan ketentuan waktu.
* Dokumentasi pengambilan contoh uji harus baik dan benar mulai dari perencanaan, pengambilan contoh uji, pelabelan, transportasi, dan penerimaan, penanganan, serta penyimpanan contoh uji.
* Rekaman kalibrasi peralatan yang digunakan didokumentasikan dengan baik.

**Lampiran A**

(normatif)

Tabel waktu dan suhu penyimpanan media agar

Tabel A.1 — Waktu dan suhu penyimpanan media agar

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Nama media** | **Komposisi media** | **pH final** | **Lama penyimpanan** | **Temperatur penyimpanan** |
| 1 | *Trypticase / Tryptone / Tryptic Soy Agar* (TSA) | Kasein pepton (*pancreatic*), soya pepton, natrium klorida, Agar | 7,3 ± 0,2 pada suhu 25 °C | 30 hari | (4 ± 2) °C |
| 2 | *Malt Extract Agar* (MEA) | Ekstrak malt, soya pepton, agar | 5,5 ± 0,2 pada suhu 25 °C | 30 hari | (5 ± 3) °C |
| 3 | *Potato Dextrose Agar* (PDA) | Ekstrak kentang, glukosa, agar | 5,6 ± 0,2 pada suhu 25 °C | 30 hari | (5 ± 3) °C |
| 4 | *Dichloran* 18 % *Glycerol Agar* (DG18) | Pepton, glukosa, Potasium dihidrogen fosfat, Magnesium sulfat heptahidrat, dikloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline) 0,2 % *mass fraction* dalam etanol, klorampenikol, gliserol, agar | 5,6 ± 0,2 pada suhu 25 °C | 1 minggu | (5 ± 3) °C |
| 5 | *Nutrient Agar* (NA) | Ekstrak *yeast*, ekstrak daging sapi pepton, natrium klorida dan agar | (6,8 – 7,2) ± 0,2 pada suhu 25 °C | 2 - 4 minggu | (20 - 30) °C |

**Lampiran B**

(normatif)

**Tabel konversi Feller untuk single sieve impaction air sampler**

**Tabel B.1 — Tabel konversi Feller untuk penggunaan air sampler dengan tutup berlubang sebanyak 300 lubang**



**Keterangan:**

r Jumlah partikel viabel yang dihitung pada media agar

Pr Total kemungkinan secara statistik dari partikel viabel yang diperlukan untuk menghasilkan r dari lubang positif

**Tabel B.2 — Tabel konversi Feller penggunaan air sampler dengan tutup berlubang sebanyak 400 lubang**



**Keterangan:**

r Jumlah partikel viabel yang dihitung pada media agar

Pr Total kemungkinan secara statistik dari partikel viabel yang diperlukan untuk menghasilkan r dari lubang positif

**Lampiran C**

(normatif)

Contoh formulir hasil pengujian faktor biologi

jumlah bakteri dan jamur di udara tempat kerja

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tanggal : | |  |
| Lokasi Pengujian : | |  |
| Metode Pengujian |  |  |
| Petugas Pengambil Sampel : | |  |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Lokasi Pengambilan Sampel | Waktu Pengambilan Sampel | Jenis Pekerjaan | Jumlah Tenaga Kerja | Suhu (ᴼC) | RH (%) | Laju Alir (*L/menit*) | Kondisi Ventilasi\* | Jumlah Koloni (CFU/m3) | | Ket (Pengendalian)\*\* |
| Bakteri | Jamur |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**Catatan:**

\*Kondisi ventilasi dapat berupa pintu/jendela yang terbuka atau tertutup atau ventilasi buatan (exhaust) on/off dst.

\*\*Pengendalian yang sudah dilakukan

Petugas pengujian

(…………………….)

**Bibliografi**

1. A Working Group of The Scottish Quality Assurance Specialist Interest Group (2004). *Guidelines on Test Methods For Environmental Monitoring For Aseptic Dispensing Facilities*.
2. Atlas, R.M. (2010). Handbook of Microbiological Media Fourth Edition. CRC Press. US
3. American Industrial Hygiene Association (2005). *Field Guide for the Determination of Biological Contaminants in Environmental Samples*.
4. American Public Health Association (2022). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. America: Water Environment Federation.
5. Andersen, A.A. (1958). *New Sampler for the Collection, Sizing, and Enumeration of Viable Airborne Particles*; U.S Army Chemical Corps Proving Ground, Dugway, Utah.
6. Corry. J.E.L dkk. (2012). *Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology 3rd Edition.* RCS Publishing. Cambrigde , UK
7. C.W. Haig , W.G. Mackay , J.T. Walker, C. Williams.(2016).*Bioaerosol sampling: sampling mechanisms, bioefficiency and field studies*. Journal of Hospital Infection 242: 255
8. ISO 14698-1:2003, *Cleanrooms and Associated Controlled Environtments – Biocontamination Control: General Principles and Method*.
9. ISO 16000-1:2011, *Indoor air Part 1: General aspects of sampling strategy*
10. ISO 16000-16:2011, *Indoor air Part 16: Detection and enumeration of moulds Sampling by Filtration*.
11. ISO 16000-17:2011, *Indoor air Part 17: Detection and enumeration of moulds — Culture-based method*
12. ISO 16000-18:2011, *Indoor air Part 18: Detection and enumeration of moulds Sampling by impaction*.
13. Mohammed, S. S. D & Tochukwu V. B. (2023). *Sampling Methods For Airborne Microorganisms.* Developments in Applied Microbiology and Biotechnology Pages 89-116
14. NIOSH Manual of Analytical Methods, *4th Edition : Bioaerosol Sampling (Indoor Air)*.
15. NIOSH Manual of Analytical Methods, *5th Edition : Sampling and Characterization of Bioaerosols*.
16. Orekan K, dkk. (2021) *Culture media for clinical bacteriology in low- and middle-income countries: challenges, best practices for preparation and recommendations for improved access.* Clinical Microbiology and Infection 27(2021): 1400-1408
17. Pasquarella C, dkk. (2020). *Passive Air Sampling: The Use of The Index of Microbial Air Contamination*. Acta Biomed ; Vol. 91, Supplement 3: 92-105.
18. Pasquarella C , Pitzurra O , Savino A. (2001).*The index of microbial air contamination*.

The Journal of Hospital Infection,46(4):241-256.

1. Pepper, I.L. & Gerba, C.P. (2004). *Environmental microbiology: a laboratory manual*. London: Elsevier academic press.
2. Peraturan Menteri Ketenagakerjaan No. 5 tahun 2018 tentang Keselamatan dan Kesehatan Kerja Lingkungan Kerja.

**Informasi pendukung terkait perumus standar**

**[1] KomiteTeknis Perumus SNI**

Komite Teknis 13-01 Keselamatan dan Kesehatan Kerja

**[2] Susunan keanggotaan KomiteTeknis Perumus SNI**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ketua : | Muhamad Idham |  |
| Sekretaris : | Nely Jumaliah |  |
| Anggota : | Muhammad Fertiaz |  |
| Anggota : | Erdiana Muliawaty |  |
| Anggota : | Supandi |  |
| Anggota : | Audist Indirasari Subekti |  |
| Anggota : | Renaldi |  |
| Anggota : | Sulistri |  |
| Anggota : | Widarto |  |
| Anggota : | Djamal Thaib |  |
| Anggota : | Hendra |  |
| Anggota : | Soehatman Ramli |  |
| Anggota : | Masjuli |  |
|  |  |  |

1. **Konseptor rancangan SNI**
2. Dewi Ria Agustin - PT.Sucofindo
3. Nely Jumaliah - Kementerian Ketenagakerjaan
4. Erdiana Muliawaty - Kementerian Ketenagakerjaan
5. Putri Sandy Pangestu **-** Kementerian Ketenagakerjaan

**[4] Sekretariat pengelola KomiteTeknis perumus SNI**

Direktorat Bina Pengujian Keselamatan dan Kesehatan Kerja Direktorat Jenderal Pembinaan Pengawasan Ketenagakerjaan dan Keselamatan dan Kesehatan Kerja, Kementerian Ketenagakerjaan.