



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

**KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
NOMOR 1538/MENKES/SK/XI/2003**

TENTANG

STANDAR PENGELOLAAN SPESIMEN LEGIONELLA

MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA,

- Menimbang : a. bahwa legionellosis merupakan penyakit infeksi bakteri akut yang dapat mengancam kesehatan masyarakat dan dapat menimbulkan kejadian luar biasa (KLB), sehingga perlu diantisipasi dan dicegah penyebarannya dengan tepat dan cepat;
- b. bahwa untuk melakukan pencegahan timbulnya bahaya penyakit bakteri legionella di lingkungan tempat-tempat umum, perlu dilakukan pengelolaan spesimen legionella secara rutin;
- c. bahwa sehubungan dengan butir a dan b tersebut diatas perlu ditetapkan Standar Pengelolaan Spesimen Legionella dengan Keputusan Menteri.
- Mengingat : 1 Undang-undang Nomor 4 Tahun 1984 tentang Wabah Penyakit Menular (Lembaran Negara tahun 1984 nomor 20, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3273);
2. Undang-undang Nomor 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1992 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara 3495);
3. Undang-undang Nomor 22 Tahun 1999 Tentang Pemerintahan Daerah (Lembaran Negara Tahun 1999 Nomor 60, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3839);
4. Peraturan Pemerintah Nomor 40 Tahun 1991 Tentang Penanggulangan Wabah Penyakit Menular (Lembaran Negara Tahun 1991 Nomor 3437, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3447);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 41 Tahun 1999 Tentang Pengendalian Pencemaran Udara (Lembaran Negara Tahun 1999 Nomor 49, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3447);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 25 Tahun 2000 Tentang Kewenangan Pemerintah dan Kewenangan Propinsi Sebagai



**MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA**

Daerah Otonom (Lembaran Negara Tahun 2000 Nomor 54,
Tambahan Lembaran Negara Nomor 3952);

7. Peraturan Pemerintah Nomor 8 Tahun 2003 Tentang Pedoman Organisasi Perangkat Daerah (Lembaran Negara Tahun 2003 Nomor 14, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4262);
8. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 560/Menkes/Per/VIII/1989 tentang Jenis Penyakit Tertentu Yang Dapat Menimbulkan Wabah, Tata Cara Penyampaian Laporrannya Dan Tata cara Penganggulangan Seperlunya;
9. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1277/Menkes/SK/XI/2001 tentang Organisasi Dan Tata Kerja Departemen Kesehatan.

MEMUTUSKAN :

Menetapkan :

- Pertama : **KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN TENTANG STANDAR PENGELOLAAN SPESIMEN LEGIONELLA.**
- Kedua : Pengelolaan Spesimen Legionella sebagaimana dimaksud dalam diktum pertama dilakukan sesuai Standar Pengelolaan Spesimen Legionella sebagaimana tercantum dalam Lampiran Keputusan ini .
- Ketiga : Standar Pengelolaan Spesimen Legionella sebagaimana dimaksud dalam diktum kedua agar digunakan sebagai pedoman oleh tenaga kesehatan baik di Dinas Kesehatan, Unit Pelaksana Teknis (Balai Teknik Kesehatan Lingkungan) maupun di Laboratorium.
- Keempat : Pembinaan terhadap pelaksanaan Standar Pengelolaan Spesimen dilakukan oleh Dinas Kesehatan Propinsi dengan mengikut sertakan sektor terkait.
- Kelima : Keputusan ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta
pada tanggal 3 Nopember 2003

MENTERI KESEHATAN,

ttd

Dr. Achmad Sujudi



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

Lampiran
Keputusan Menteri Kesehatan
Nomor : 1538/Menkes/SK/XI/2003
Tanggal : 3 Nopember 2003

PROSEDUR PENGELOLAAN SPESIMEN LEGIONELLA

I. PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Legionellosis adalah suatu penyakit infeksi bakteri akut yang bersifat new emerging diseases. Secara keseluruhan baru dikenal 20 spesies dan penyebab Legionellosis adalah Legionella pneumophila.

Pertama kali penyakit Legionella terjadi di Philadelphia Amerika Serikat pada tahun 1976, dengan jumlah kasus 182 dan kematian 29 orang (CFR 15,9 %) serta merupakan wabah pertama yang melanda dunia.

Di Indonesia kasus ini terjadi pada sejumlah tempat antara lain di Bali (1996), di Karawaci Tangerang (1999) dan di sejumlah kota lainnya. Dari hasil survei tahun 2001 pada air menara sistem pendingin di hotel-hotel yang ada di Jakarta dan Denpasar ditemukan hampir 20 % dari petugas pengelola air menara sistem pendingin tersebut, hal ini terlihat dari hasil pemeriksaan laboratorium terhadap darah para petugas pernah terpajan dengan bakteri Legionella.

Bakteri Legionella biasa hidup di air laut, air tawar, sungai, lumpur, danau, mata air panas, genangan air bersih, air menara sistem pendingin di gedung bertingkat, hotel, Spa, pemandian air panas, air tampungan system air panas di rumah-rumah, air mancur buatan yang tidak terawat baik, adanya endapan, lendir, ganggang, jamur, karat, kerak, debu, kotoran atau benda asing lainnya. Bakteri ini juga terdapat pada peralatan rawat di rumah sakit seperti alat bantu pernafasan.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

Bakteri *Legionella pneumophila* termasuk bakteri Gram negatif, berbentuk batang, tidak meragi D glukosa, tidak mereduksi nitrat menjadi nitrit.

Koloni bakteri ini hidup subur menempel pada pipa-pipa karet dan plastik yang berlumut dan tahan terhadap kaporisasi dengan konsentrasi klorin 2-6 mg/l. Bakteri *Legionella* dapat hidup pada suhu antara 5,7 °C. sampai 63 °C dan hidup subur pada suhu 30 °C-45 °C.

Penularan bakteri *Legionella* pada manusia yaitu antara lain melalui aerosol di udara atau karena minum air yang mengandung bakteri *Legionella*. Penularan dapat pula melalui aspirasi air yang terkontaminasi, inokulasi langsung melalui peralatan terapi pernafasan dan pengompresan luka dengan air yang terkontaminasi. Masa inkubasi penyakit 1 – 10 hari.

Tempat keberadaan bakteri *Legionella*, sangat erat dengan kehidupan manusia, sehingga kemungkinan dapat terjadi kejadian luar biasa di masyarakat. Keberadaan bakteri *Legionella* di sarana rumah sakit yang tidak dikelola dengan baik juga dapat menimbulkan infeksi nosokomial. Dengan berkembangnya kasus penyakit Legionellosis di objek-objek wisata akan berdampak negatif terhadap perkembangan pariwisata tersebut.

Untuk mencegah berkembangnya bakteri *Legionella*, maka minimal seminggu sekali dilakukan pemeriksaan penampungan air terhadap kerusakan fisik, bau dan zat organik, dan adanya serbuk-serbuk yang mengandung bakteri *Legionella*.

B. Ruang Lingkup

Ruang lingkup sasaran dan pengelolaan sampel meliputi pengambilan, penyimpanan, pengiriman dan pemeriksaan sampel.

C. Sasaran

1. Sampel air
2. Sampel darah
3. Sampel urin
4. Sampel sputum



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

5. Sampel sekret bronkus

II. PENGELOLAAN SAMPEL LEGIONELLA

A. Pengelolaan Sampel Air

1. Minimal sekali seminggu dilakukan pemeriksaan pada penampung air, untuk memeriksa apakah ada kerusakan fisik, bau busuk dari zat organik, serta adanya serbuk-serbuk yang mengandung bakteri Legionella.
2. Pengendalian bakteri Legionella dapat dilakukan dengan pemberian desinfektan setiap 6 (enam) bulan sekali dan dilakukan 3 (tiga) bulan setelah pemeriksaan sampel air.
3. Pemeriksaan sampel air dilakukan setiap 6 (enam) bulan sekali untuk mendeteksi bakteri Legionella

1) Pengambilan.

a. Perpipaan diambil di titik akhir distribusi :

- (1) Ambil 10 ml air dari kran dengan tabung steril.
- (2) Buka kepala kran/shower dan lakukan swab dengan cara memutar pada permukaan bagian dalam ujung pipa.
- (3) Masukkan swab ke dalam tabung steril di atas.
- (4) Buka kran/shower dan tampung air dalam botol atau jerigen steril sebanyak 1000 ml.
- (5) Masukkan air dan swab yang ada pada tabung steril ke dalam botol atau jerigen di atas.
- (6) Tambahkan natrium thiosulfat 10 % sebanyak x 1 ml untuk menetralkan klor dari 1000 ml sampel air.
- (7) Sterilkan tutup botol dengan alkohol 70%.
- (8) Tutup mulut botol hingga rapat untuk mencegah adanya kontaminasi.
- (9) Pasang label nama/kode, nomor, lokasi sumber air, tanggal dan jam pengambilan.

b. Penampungan air.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

- (1) Ambil air sebanyak 1000 ml dengan cara membenamkan botol/jerigen steril kedalam penampungan air. (mulut botol atau jerigen menghadap kepermukaan air).
- (2) Tambahkan natrium thiosulfat sebanyak 100 mg untuk menetralkan klor dari 1000 ml sampel air.
- (3) Sterilkan tutup botol dengan alkohol 70 %.
- (4) Tutup mulut botol hingga rapat untuk mencegah adanya kontaminasi.
- (5) Pasang label nama/kode, nomor, lokasi sumber air, tanggal dan jam pengambilan.

2) Penyimpanan

Masukkan sampel air ke dalam kotak pendingin (ice box) yang berisi kantong pendingin (ice pack) tutup rapat kotak pendingin.

3) Pengiriman

- a. Kirim segera sampel air ke laboratorium
- b. Bila pengiriman membutuhkan waktu lebih dari 48 jam, sampel harus dibekukan (disimpan pada suhu -20°C atau dalam tangki nitrogen cair).

4) Pemeriksaan

Dalam pemeriksaan sampel lingkungan dapat dilakukan dengan cara kultur atau uji biokimia atau uji hibridisasi atau imunoflorosensi.

1. Kultur

a) Pembuatan kultur pada lempeng agar :

- (1) Seluruh sampel air disentrifus dengan gaya 6000 g (36.000 rpm) selama 10 menit atau difiltrasi dengan diameter pori 0,2 μm .
- (2) Endapan atau filter yang sudah dipotong-potong di larutkan dengan 10 ml air steril.
- (3) Kocok larutan dengan vortex.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

- (4) Tanamkan larutan dengan ose pada lempeng agar yang sudah ditambah dengan suplemen pertumbuhan dan suplemen selektif.
- (5) Inkubasikan pada suhu 35°C minimal 2 x 24 jam dalam CO_2 2,5-5 % (inkubator CO_2 atau sungkup lilin).
- (6) Amati lempeng agar pertumbuhan koloni Legionella tampak sebagai bulatan dengan tepi meniggi, mengkilap, berwarna putih keabu-abuan dan lengket. Dengan mikroskope disekting binokuler tampak tampilan koloni ground glass appearance (tembus pandang). Jika jumlah koloni tampak sangat padat, ulangi penanaman dengan mengambil 1 koloni, kemudian asamkan terlebih dahulu dengan 0,2 N HCL selama 5 menit.
- (7) Lakukan pengukuran pH, bila $\text{pH} < 2,2$ tambahkan KOH 1 M sedikit demi sedikit.

b). Pewarnaan gram:

- (1) Buat sediaan apus dari koloni bakteri yang berbentuk bulat dan konveks (cembung), putih keabu-abuan serta lengket.
- (2) Lakukan fixasi dengan methyl alkohol atau lewatkan di atas nyala api.
- (3) Teteskan larutan gentian violet pada preparat dan diamkan selama 1 menit, lalu cuci dengan air mengalir.
- (4) Teteskan larutan lugol (iodine reagent) pada preparat dan diamkan selama 1 (satu) menit, lalu cuci dengan air mengalir.
- (5) Teteskan alkohol absolut pada preparat dan diamkan selama 30 menit sampai warna hilang kemudian di cuci dengan air mengalir.
- (6) Teteskan larutan karbol fuhsin pada preparat dan diamkan selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir dan keringkan di udara.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

(7) Periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 100 : bakteri Legionella berbentuk batang, gram negatif dengan ukuran 2-50 um dan lebar 0,5-1 um.

c) Permurnian koloni Legionella

(1) Ambil kembali koloni dari hasil pada pewarnaan gram yang menunjukkan tersangka Legionella dengan ose.

(2) Tanamkan koloni pada lempeng agar yang sudah ditambah dengan suplemen selektif dan suplemen pertumbuhan.

(3) Tanamkan juga koloni pada lempeng agar darah.

(4) Inkubasikan pada suhu 35 ° C selama 2 x 24 jam di dalam sungkup lilin (candle jar) yang ditambah CO₂ 5%.

(5) Pertumbuhan koloni Legionella pada lempeng agar dengan suplemen selektif dan suplemen pertumbuhan tampak sebagai bulatan dengan tepi meninggi, mengkilap, berwarna putih keabu-abuan dan lengket. Bila hal tersebut terjadi maka koloni Legionella seharusnya tidak akan tumbuh pada lempeng agar darah. Bila tumbuh berarti bukan Legionella.

d) Penyinaran dengan sinar Ultra Violet.

Sinari lempeng agar yang berisi koloni Legionella yang telah dimurnikan dengan sinar ultra violet pada panjang gelombang 360 nm.

Amati dan lakukan interpretasi terhadap warna fluoresensi yang timbul :

(1) Kemerahan : mungkin *L.erythra/L.rubriluscesns*

(2) Kebiru-biruan : mungkin *L.bozemanii/L.anisa/L.parisiensis/L.dumoffii/L.gormanii/L.cherii*.

(3) Tidak berfluoresensi : mungkin *L.pneumophila/L.spiritensis/L.longbeachae/ L.jordanis dll*.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

e) Uji Aglutinasi

- (1) Ambil kembali koloni yang sudah dimurnikan.
- (2) Lakukan uji aglutinasi dengan menggunakan kit aglutinasi (prosedur dan cara pemeriksaan sesuai dengan petunjuk yang tertera pada kit yang dipergunakan).
- (3) Lakukan pengamatan terhadap lempeng aglutinasi, bila terjadi aglutinasi berarti patogen (*L.pneumophila*).

2. Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk memperkirakan jenis spesies bakteri *Legionella*.

Lakukan pembuatan kultur pada lempeng agar :

- a. Lakukan pewarnaan Gram
- b. Lakukan pemurnian koloni *Legionella*
- c. Lakukan penyinaran koloni *Legionella* yang telah dimurnikan dengan sinar ultra violet.
- d. Lakukan uji pergerakan (hanging drop method)
 - (1) Lakukan inokulasi 1-2 koloni bakteri dalam 5 ml kaldu nutrient.
 - (2) Lakukan inkubasi 35 °C selama 2-3 jam
 - (3) Teteskan 1(satu) tetes suspensi bakteri di gelas penutup, tutup dengan gelas obyek cekung pada bagian cekungnya kemudian balikkan.
 - (4) Amati pergerakan bakteri dengan mikroskop. Bedakan pergerakan bakteri dari gerak Brown.

e. Lakukan uji Catalase

- (1) ambil koloni dan sebar di atas kaca obyek
- (2) teteskan H₂O₂ 3% beberapa tetes
- (3) tutup dengan gelas penutup
- (4) amati bila positif ditunjukkan oleh adanya gelembung gas.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

f. Lakukan uji Oksidase

- (1) buat larutan segar (larutan baru)
- (2) teteskan 2 tetes larutan segar dengan pipet Pasteur di atas filter yang berdiameter pori 0,2 um dalam lempeng petri
- (3) ambil koloni bakteri dengan tusuk gigi steril, goreskan diatas filter yang berisi larutan tadi.
- (4) Amati bila hasil positif, goreskan koloni pada filter berwarna ungu gelap selama 10-60 detik.

g. Lakukan uji Gelatinase

- (1) siapkan nutrient gelatin dalam tabung
- (2) sentuh beberapa koloni dengan jarum
- (3) tusukkan jarum di tengah tabung nutrient gelatin sampai dengan 10 mm dari dasar tabung
- (4) inkubasikan pada suhu 35 ° selama 24-48 jam
- (5) pindahkan tabung ke ice bath selama 1 jam, jangan dikocok atau di goyang.
- (6) Siapkan tabung yang berisi nutrient gelatin dan bakteri pseudomonas aeruginosa sebagai kontrol positif, sedangkan tabung sebagai kontrol negatif hanya berisi nutrien gelatine
- (7) Balikkan tabung-tabung tersebut perlahan-lahan
- (8) Amati, bila kaldu mencair berarti hasil positif, bila tetap padat hasil negatif.

h. Uji β - lactamase

Uji dengan menggunakan cakram nitrocefin, prosedur memperhatikan petunjuk perusahaan pembuat.

i. Uji hippurate hydrolysis

- (1) Biarkan Legionella yang telah dimurnikan berumur 24 – 96 jam.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

- (2) Buat larutan sodium hippurate 1% dalam tabung dan masukkan koloni bakteri sampai pekat.
- (3) Keluarkan tabung dari inkubator, dan tambahkan 0.2 ml larutan ninhydrin 3.5%, dalam aseton-beitanol dengan perbandingan yang sama.
- (4) Inkubasikan pada suhu 35⁰ C selama 18 – 20 jam.
- (5) Masukkan kembali tabung ke dalam inkubator selama 10 menit.
- (6) Keluarkan tabung dari inkubator dan langsung lakukan pengamatan. Pengamatan dilakukan tidak lebih dari 20 menit setelah dikeluarkan dari inkubator.
- (7) Lakukan interpretasi, positif kuat berwarna ungu tua, positif lemah berwarna ungu muda, dan negataif warna tidak berubah.

j. Interpretasi hasil uji biokimia

Interpretasi terhadap hasil uji biokimia dapat dilakukan dengan menggunakan tabel sebagai berikut :

Spesies	Gerak	Oxidase	Cata-lase	Gelati-nase	β -Lacta-mase	H. Hydro-lysis
L.pneumo-phila	+	+	+	+	+	+
L.longbeac	+	+	+	+	+	-
L.oakrid-gensis	-	-	+	+	+/-	-
L.dumofii	+	-	+	+	+	-
L.jordanis	+	+	+	+	+	-
L.feelei	+	-	+	-	-	-

3. Uji hibridisasi

- a. Lakukan pembuatan kultur pada lempeng agar.
- b. Lakukan pewarnaan Gram
- c. Lakukan pemurnian koloni Legionella.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

- d. Lakukan penyinaran koloni Legionella yang telah dimurnikan dengan sinar ultra violet.
 - e. Lakukan uji hibridisasi dengan menggunakan kit hibridisasi (prosedur dan cara pemeriksaan sesuai dengan petunjuk yang tertera pada kit yang dipergunakan).
4. Uji Imunoflorosensi
- a. Lakukan pembuatan kultur pada lempeng agar.
 - b. Lakukan pewarnaan Gram
 - c. Lakukan pemurnian koloni Legionella.
 - d. Lakukan penyinaran koloni Legionella yang telah dimurnikan dengan sinar ultra violet.
 - e. Lakukan uji imunoflorosensi dengan cara sebagai berikut :
 1. ambil koloni Legionella yang telah dimurnikan
 2. oleskan koloni di atas permukaan objek glass.
 3. tambahkan poliklonal antibodi Legionella pnemopila.
 4. tambahkan konjugate.
 5. amati dibawah mikroskop florosensi, hasil positif bila tampak warna hijau apel berpendar.

B. Pengelolaan Sampel Darah

Pemeriksaan sampel darah dilakukan apabila hasil pemeriksaan air dan urin negatif. Pemeriksaan dilakukan memastikan adanya antibodi terhadap bakteri Legionella yang menunjukkan bahwa seseorang pernah terpajan dengan bakteri tersebut.

1. Pengambilan

- a. Ikat lengan atas dengan menggunakan karet pengikat lalu tangan dikepalkan.
- b. Tentukan vena yang akan ditusuk kemudian didesinfeksi dengan kapas beralkohol 70%.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

- c. Tusuk dengan jarum spuit dengan posisi 45° pada siku lengan atas.
- d. Ambil darah sebanyak 5 cc.
- e. Buka karet pengikat lengan kemudian tempelkan kapas alkohol pada ujung jarum yang menempel di kulit kemudian tarik jarum perlahan-lahan.
- f. Tekan tempat tusukan dengan kapas alkohol kemudian tutup dengan plester.
- g. Pindahkan darah dari spuit ke tabung perlahan-lahan.
- h. Beri label nama/kode nomor penderita dan tanggal waktu pengambilan sampel.

2. Penyimpanan

- a. Diamkan sampel selama 1 jam pada suhu kamar atau satu malam di dalam refrigerator pada suhu $4 - 8^{\circ}\text{C}$.
- b. Sentrifus selama 15 menit dengan $443,5\text{ g}$ (2000 rpm)
- c. Ambil serum dengan pipet Pasteur, pindahkan ke dalam tabung lain dan tutup rapat.
- d. Serum disimpan pada freezer suhu -20°C , bila lebih dari 48 jam.

3. Pengiriman

- a. Kirim segera ke laboratorium.
- b. Kirim tabung serum dalam kotak pendingin yang berisi kantong pendingin (ice pack).
- c. Bila pengiriman membutuhkan waktu lebih dari 48 jam, sampel harus dibekukan (disimpan pada suhu -20°C atau dalam tangki nitrogen cair).

4. Pemeriksaan

Metode yang dapat dilakukan adalah : ELISA, Immunofluorescent antibody (IFA), aglutinasi.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

Prosedur pemeriksaan dan pembacaan hasil mengacu pada kit yang dipergunakan.

C. Pengelolaan Sampel Urin

Pemeriksaan urin dilakukan untuk dapat memastikan seseorang terinfeksi bakteri Legionella.

1. Pengambilan sampel

- a. bersihkan alat kelamin luar dengan air sabun
- b. tampung urin porsi tengah sebanyak 10 cc.
- c. tutup rapat botol sampel
- d. label nama/kode nomor penderita dan tanggal waktu pengambilan sampel.

2. Penyimpanan

- a. Simpan sampel dalam freezer dengan suhu -20°C bila lebih dari 48 jam.
- b. Masukkan sampel dalam kotak pendingin yang berisi ice pack, bila akan segera kirim ke laboratorium.

3. Pengiriman

- a. Masukkan sampel dalam kotak pendingin yang berisi ice pack, dan segera kirim ke laboratorium
- b. Bila akan dikirim dalam waktu lebih dari 48 jam, sampel harus dibekukan (suhu -20°C).

4. Pemeriksaan

Metode yang dilakukan : ELISA

Prosedur pemeriksaan dan pembacaan hasil sesuai dengan petunjuk pada kit.



MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA

D. Pengelolaan Sampel Sputum

Pemeriksaan sputum sebagai alternatif untuk memastikan bahwa seseorang terinfeksi bakteri Legionella. Pemeriksaan juga hanya terhadap pasien yang mempunyai keluhan batuk.

1. Pengambilan sampel

- a. Penderita diminta mengeluarkan dahak dengan cara batuk ke dalam wadah sputum.
- b. Bila tidak mendapatkan dahak, dibantu dengan perangsangan (espektoran, minum air teh manis, menghirup uap panas, dll)
- c. Tutup rapat, jika tidak diperiksa dalam 24 jam, simpan di suhu -70°C

2. Penyimpanan

- a. Wadah sputum disimpan dalam refrigerator (suhu $4-8^{\circ}\text{C}$) bila akan segera dilakukan pemeriksaan.
- b. Wadah sputum disimpan dalam freezer (suhu -70°C) bila disimpan > 24 jam.

3. Pengiriman

Kirimkan sputum dalam kotak pendingin yang berisi ice pack.

4. Pemeriksaan

Pemeriksaan sputum dapat dilakukan dengan cara pewarnaan langsung atau Kultur.

- a. Pewarnaan langsung dengan Direct Fluorescent Anti Body (DFA).
 - 1) Ambil bagian sputum yang paling pekat/berwarna kekuningan.
 - 2) Buat sediaan tipis pada gelas obyek.
 - 3) Keringkan di udara.
 - 4) Fiksasi dengan panas dan formalin netral 10% selama 10 menit.
 - 5) Bilas sisa formalin dengan air dan keringkan.
 - 6) Prosedur selanjutnya dan pembacaan hasil sesuai kit yang digunakan.



**MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA**

b. Kultur

Prosedur pemeriksaan sputum secara kultur adalah sama dengan pemeriksaan kultur sampel air.

E. Pengelolaan Sekret Bronkus

Pemeriksaan sekret bronkus dilakukan untuk memastikan adanya bakteri Legionella dan hanya dilakukan di rumah sakit yang mempunyai peralatan lengkap dan dokter spesialis paru.

MENTERI KESEHATAN,

ttd

Dr. ACHMAD SUJUDI