

ABSTRACT

Background: *Bacillus subtilis* is a standard culture in bacteriology laboratories to determine the quality of spore staining quality standards whose maintenance is usually carried out by periodic rejuvenation techniques by repeated inoculation on agar media or new growth media. The technique of periodic rejuvenation can risk contamination, so it needs to be re-identified and can cause additional time and costs because it can only be done in a short period of time or not too long.

Research Objectives: This study aimed to determine the viability and morphology of the lyophilized *Bacillus subtilis* stored for two months at -20°C.

Research Methods: This type of research is observational with a cross-sectional research design.

Results: The mean of total plate number of lyophilized *Bacillus subtilis* before and after being stored for two months at -20°C, respectively, was 7.0×10^6 CFU/ml and 1.1×10^6 CFU/ml. The viability of the bacterial lyophilisate of *Bacillus subtilis* stored for two months at -20°C was 6.8×10^0 CFU/ml and still considered good. Morphological observations of lyophilized *Bacillus subtilis* before and after being stored for two months at a temperature of -20°C macroscopically gave similar results to pure cultures of *Bacillus subtilis*. Microscopic morphological observations and biochemical tests of lyophilized *Bacillus subtilis* before and after being stored for two months at a temperature of -20°C macroscopically gave the same results as pure cultures of *Bacillus subtilis*.

Conclusion: The viability of lyophilized *Bacillus subtilis* bacteria stored for two months at -20°C decreased by 10^0 CFU/ml or log 0 and was still within reasonable limits. The bacterial morphology of *Bacillus subtilis* was quite capable of being maintained by lyophilization technique for storage for two months at -20°C. Thus, the lyophilization technique for storage and maintenance of *Bacillus subtilis* for two months at a temperature of -20°C can be used as an alternative to storage and maintenance of bacteria by means of periodic rejuvenation.

Keywords: Viability, morphology, lyophilisate, *Bacillus subtilis*, storage.

ABSTRAK

Latar Belakang: Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan kultur standar pada laboratorium bakteriologi untuk mengetahui kualitas standar mutu pewarnaan spora yang pemeliharaannya biasanya dilakukan dengan teknik peremajaan secara berkala dengan cara inokulasi berulang pada media agar atau media tumbuh yang baru. Teknik peremajaan secara berkala dapat berisiko terjadinya kontaminasi sehingga perlu diidentifikasi ulang serta dapat menyebabkan penambahan waktu dan biaya karena hanya dapat dilakukan dalam jangka waktu yang singkat atau tidak terlalu lama.

Tujuan Penelitian: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C .

Metode Penelitian: Jenis penelitian adalah observasional dengan desain penelitian *Cross-sectional*.

Hasil Penelitian: Rerata Angka Lempeng Total (ALT) liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* sebelum dan setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C secara berurutan adalah sebesar $7,0 \times 10^6$ CFU/ml dan $1,1 \times 10^6$ CFU/ml. Viabilitas liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C adalah $6,8 \times 10^0$ CFU/ml dan masih termasuk baik. Pengamatan morfologi liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* sebelum dan setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C secara makroskopis memberikan hasil yang serupa dengan kultur murni bakteri *Bacillus subtilis*. Pengamatan morfologi secara mikroskopis dan uji biokimia liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* sebelum dan setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C secara makroskopis memberikan hasil yang sama dengan kultur murni bakteri *Bacillus subtilis*.

Kesimpulan: Viabilitas liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C menurun sebanyak 10^0 CFU/ml atau log 0 dan masih dalam batas yang wajar. Morfologi bakteri *Bacillus subtilis* cukup mampu dipertahankan dengan teknik liofilisasi untuk penyimpanan selama dua bulan pada suhu -20°C . Dengan demikian, teknik liofilisasi untuk penyimpanan dan pemeliharaan bakteri *Bacillus subtilis* selama dua bulan pada suhu -20°C dapat dijadikan alternatif penyimpanan dan pemeliharaan bakteri dengan metode peremajaan berkala.

Kata kunci: Viabilitas, morfologi, liofilisat, *Bacillus subtilis*, penyimpanan.