

Prosedur Pengecekan Antara Bahan Acuan Mikroba untuk  
*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, & *Geobacillus stearothermophilus*

Sistem identifikasi mikroba dengan menggunakan API 50 CH yang merupakan suatu standar system, menggunakan rangkaian 50 jenis uji biokimia untuk menentukan reaksi metabolisme karbohidrat dari mikroba. API 50 CHB medium digunakan untuk identifikasi kelompok bakteri dari genera *Bacillus*.

**Preparasi inokulum**

- Buat kultur bakteri dalam Nutrient Agar, inkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu  $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Periksa karakteristik (morphologi, gram stain, dan katalase) dan keseragaman biakan koloni dalam agar.
- Siapkan NaCl fisiologis steril dalam tabung reaksi sebanyak 2 mL dan 5 mL.
- Panen kultur bakteri dan buat suspensi ke dalam NaCl fisiologis steril sebanyak 2 mL.
- Lakukan standarisasi kekeruhan suspensi bakteri yang setara dengan 2 McFarland ke dalam tabung yang berisi NaCl fisiologis steril sebanyak 5 mL, hitung banyaknya tetesan suspensi sampai diperolehnya kesetaraan (n tetes).
- Lakukan hal sama ke dalam API 50 CHB medium tetapi dengan mengalikan 2 x n tetes dari larutan suspensi awal.

**Inokulasi ke dalam strip test**

- Distribusikan dengan memasukan biakan suspensi di atas ke dalam mikrotube dalam strip test dengan menggunakan pipet. Strip test ditempatkan miring dan hindari pembentukan *bubbles* pada saat memasukan suspensi bakteri.
- Pastikan kondisi anaerob pada bagian ADH dan URE dengan menambahkan *mineral oil* ke dalam mikrotube tersebut sampai dengan membentuk *convex meniscus*.
- Tutup kotak inkubasi, dan inkubasi pada suhu  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 18 – 24 jam.

**Pembacaan dan interpretasi hasil**

- Setelah periode inkubasi, baca dan tulis setiap hasil yang diperoleh dari setiap test (positif (+)/negatif (-)/doubtful (?)) ke dalam form hasil yang sudah tersedia (*result sheet*).
- Tentukan hasil dari profil biokimia yang diperoleh dengan menggunakan *identification software*.