

## KARAKTERISASI BIOKIMIA DAN RESPONS FAKTOR ABIOTIK PADA *Bacillus flexus*

Rasmiyana Rasmiyana\*, Angga Prasetyo

Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Jember  
Jl. Mastrip PO BOX 164, Jember, Jawa Timur Indonesia

### Abstrak

*Bacillus flexus* merupakan bakteri Gram-positif dengan potensi besar dalam bioteknologi dan bioremediasi karena kemampuan enzimatik dan adaptasinya terhadap lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi sifat biokimia *B. flexus* dan responsnya terhadap faktor abiotik (suhu, pH, tekanan osmotik) guna mengoptimalkan aplikasinya. Uji biokimia menunjukkan kemampuan hidrolisis pati (produksi amilase), fermentasi glukosa, laktosa, dan manitol (heterofermentatif), serta produksi katalase. Uji abiotik mengungkap pertumbuhan optimal pada suhu mesofilik (24–26°C), pH basa (5–9), dan toleransi osmotik tinggi (sukrosa 40%, NaCl 30%). Hasil ini menegaskan potensi *B. flexus* sebagai penghasil enzim industri (amilase, katalase) dan agen bioremediasi di lingkungan salin/alkali. Saran untuk penelitian selanjutnya meliputi pengukuran kuantitatif aktivitas enzim dan uji aplikasi skala besar.

**Kata kunci:** *Bacillus flexus*; *Biokimia*; *response Abiotik*

### Abstract

*Bacillus flexus* as gram-positive bacterium have significant potential in biotechnology and bioremediation due to its enzymatic capabilities and environmental adaptability. This study aimed to characterize the biochemical properties of *B. flexus* and evaluate its response to abiotic factors (temperature, pH, osmotic pressure) to optimize its applications. Biochemical tests confirmed its ability to hydrolyze starch (amylase production), ferment glucose, lactose, and mannitol (heterofermentative), and produce catalase. Abiotic tests revealed optimal growth at mesophilic temperatures (24–26°C), alkaline pH (5–9), and high osmotic tolerance (40% sucrose, 30% NaCl). These findings highlight *B. flexus* as a promising candidate for industrial enzyme production (e.g., amylase, catalase) and bioremediation in saline or alkaline environments. Further research is recommended to quantify enzyme activity and explore large-scale applications.

**Keywords:** *Bacillus flexus*; *Biochemichal*; *Abiotic response*

## 1. PENDAHULUAN

Eksplorasi potensi mikroorganisme dalam bioteknologi dan bioremediasi telah mengalami perkembangan signifikan. Salah satu bakteri yang menarik perhatian adalah *Bacillus flexus*. Genus *Bacillus* yang dikenal memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan ekstrem. Bakteri ini telah dilaporkan berperan penting dalam produksi enzim ekstraseluler yang banyak diaplikasikan pada berbagai bidang. Bakteri ini mampu memproduksi enzim fibrinolitik yang sangat dibutuhkan

dibidang kesehatan (Al Farraj et al., 2020). *Bacillus flexus* memiliki kemampuan memproduksi beberapa enzim dalam pengolahan limbah tekstil. Contohnya mampu menghilangkan zat kimia azo yang berbahaya bagi kesehatan dan ekosistem air (Batool et al., 2024). Selain itu, *B. flexus* juga menunjukkan potensi yang menjanjikan dalam bioremediasi lingkungan, termasuk degradasi senyawa hidrokarbon, logam berat, dan limbah organik.

Pemanfaatan *Bacillus flexus* pada lingkungan seperti bioremediasi, biodegradasi dan pengolahan limbah. Bioremediasi merupakan pemanfaatan mikroba sebagai agen penetral tanah dan air yang tercemar sehingga tidak menimbulkan masalah kesehatan dan juga tidak mengganggu lingkungan. Sedangkan biodegradasi merupakan proses perombakan secara biologis yang dapat dilakukan oleh mikroorganisme (Waluyo, 2018).

Sebagai agen bioremediasi bakteri ini berperan dalam bioremediasi lingkungan air yang tercemar arsen (Jebeli et al., 2017). *Bacillus flexus* memiliki potensi sebagai agen remediasi pada lingkungan air yang terkontaminasi limbah pestisida (Mulla et al., 2017). *Bacillus flexus* memiliki potensi untuk digunakan sebagai bioremediasi dalam menghilangkan amonia dari limbah cair udang yang mengandung nitrogen yang tinggi (Jasmin et al., 2024).

Karakterisasi biokimia dan fisiologi *B. flexus* merupakan langkah kritis sebelum memanfaatkannya secara optimal dalam aplikasi industri dan lingkungan. Sementara itu, pemahaman terhadap respons terhadap faktor abiotik seperti suhu, pH, dan tekanan osmose lingkungan sangat penting untuk menentukan kondisi optimal pertumbuhan dan aktivitas fungsionalnya

Meskipun beberapa penelitian telah menginvestigasi potensi genus *Bacillus* secara umum, data spesifik mengenai karakteristik biokimia dan toleransi abiotik *B. flexus* masih terbatas. Padahal, informasi tersebut sangat diperlukan untuk mengembangkan strategi kultivasi dan aplikasinya dalam skala besar.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik biokimia *B. flexus* serta

menguji pengaruh faktor abiotik terhadap pertumbuhan dan aktivitasnya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah untuk pemanfaatan *B. flexus* dalam produksi enzim industri dan bioremediasi, sekaligus mengisi celah pengetahuan terkait optimasi kondisi kultivasi bakteri ini. Uji biokimia diperlukan agar mengetahui kemampuan metabolik dan enzimatis untuk mendukung pemanfaatannya dalam bioremediasi dan produksi enzim industri. Uji faktor abiotik kondisi lingkungan optimal agar kinerjanya maksimal, menjamin efisiensi, keberlanjutan, dan keamanan dalam penggunaannya di industri maupun pengolahan limbah.

## **2. METODE PENELITIAN**

### *2.1 Uji Biokimia*

#### *2.1.1 Hidrolisis pati*

*B. flexus* diinokulasi ke media yang mengandung pati (media NA + pati 1%). Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Setelah itu, larutan iodine ditetesi ke media hingga menutupi permukaan media. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona transparan di sekitar koloni yang menandakan terjadinya hidrolisis pati (Cappuccino & Sherman, 2014).

#### *2.1.2 Fermentasi karbohidrat (glukosa dan Manitol)*

##### *2.1.2.1 fermentasi glukosa*

*B. flexus* diinokulasi ke media phenol red glucose broth dan phenol red lactose broth dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Hasil positif adanya fermentasi glukosa dan laktosa adalah munculnya warna kuning yang menandakan keadaan asam dan bisa disertai terbentuknya gas pada tabung durham (Saryono et al., 2023).

##### *2.1.2.2 fermentasi manitol*

*B. flexus* diinokulasi ke media Vogel Johnson Agar (VGA) dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Hasil positif adanya fermentasi manitol adalah media berwarna kuning (Moraes et al., 2021).

### 2.1.3 Uji Katalase

*B. flexus* diambil secara steril dan digoreskan pada kaca preparat. Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ditetesi hingga menutupi permukaan goresan. Hasil positif ditandai dengan munculnya gelembung (Lay, 1994 dalam Sianipar et al., 2020).

## 2.2 Faktor Abiotik

### 2.2.1 Suhu

*Bacillus flexus* diinokulasikan pada 3 tabung reaksi yang telah terisi NA (*Nutrient Agar*). Sampel diinkubasikan pada tiga kondisi suhu yang berbeda yaitu suhu ruang (24-26<sup>0</sup>C), Suhu dingin 4<sup>0</sup>C dan suhu panas (55<sup>0</sup>C) selama 24 jam.

### 2.2.2 pH (Derajat Keasaman)

Media NB (*Nutrient Broth*) disiapkan dengan variasi pH yaitu 3, 5, 9. *Bacillus flexus* Inokulasikan pada 3 tabung reaksi dengan variasi pH pada media. Inkubasikan sampel pada suhu 30<sup>0</sup>C selama 24 jam.

### 2.2.3 Tekanan Osmose

Larutan NaCl diencerkan dengan serial 40 %, 4 %, 0,4 %. Larutan sukrosa diencerkan dengan serial 30 %, 3 %, dan 0,3%. Media NA cair dicampurkan dengan masing-masing konsentrasi larutan sukrosa dan NaCl. Setelah homogen campuran dituangkan pada cawan petri. *Bacillus flexus* digoreskan pada campuran media yang telah memadat.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji biokimia bertujuan mengidentifikasi mikroorganisme berdasarkan ada atau tidaknya produksi enzim yang ditandai oleh perubahan biokimia dengan substrat dan koloni bakteri (Wanger et al., 2017). Hasil uji biokimia berupa uji hidrolisis pati, uji fermentasi karbohidrat, dan uji katalase dapat dilihat pada Tabel 1. Uji hidrolisis pati bertujuan mengetahui kemampuan *B. flexus* dalam memproduksi enzim amilase yang mampu menghidrolisis pati menjadi molekul sederhana (Dida, 2018). Hasil uji hidrolisis pati menunjukkan *B. flexus* mampu memproduksi enzim amilase yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Zona bening terjadi karena pati sudah terhidrolisis oleh enzim amilase menjadi monomer sehingga tidak

terbentuk ikatan dengan iodine (Jannah et al., 2021). Genus *Bacillus* sendiri telah diteliti mampu menghasilkan enzim amilase (Milek & Lamkiewicz, 2022).

Tabel 1. Uji Biokimia *B. flexus*

Uji	Hasil	Keterangan	
<b>Hidrolisis Pati</b>	+	Terbentuk zona bening	
<b>Fermentasi Karbohidrat</b>	Glukosa	+	Perubahan warna menjadi kuning; adanya gas
	Laktosa	+	Perubahan warna menjadi kuning; adanya gas
	Manitol	+	Perubahan warna menjadi kuning; adanya gas
<b>Katalase</b>	+	Adanya gelembung	

Uji fermentasi karbohidrat menggunakan tiga substrat yaitu glukosa, laktosa, dan manitol. Uji ini bertujuan mendeteksi kemampuan *B. flexus* dalam memfermentasi karbohidrat tertentu. Pada Tabel 1, uji fermentasi glukosa, laktosa, dan manitol pada *B. flexus* menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Selain itu, hasil fermentasi juga terbentuk gas yang terperangkap pada tabung Durham. Genus *Bacillus*, seperti *B. subtilis* dan *B. cereus* telah diteliti mampu menggunakan substrat glukosa dan laktosa dalam proses fermentasi (Magdalena et al., 2021; Maktabdar et al., 2024). Bakteri *B. clausii* dan *B. megaterium* juga telah diteliti mampu memfermentasi manitol (Sura & Hiremath, 2019; Werdi & Al-Hadidy, 2023).

Hasil dari fermentasi karbohidrat adalah terbentuknya asam organik yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning karena terjadi perubahan pH pada media (Kali et al., 2015). Selain terjadi perubahan warna, hasil fermentasi bisa juga disertai dengan adanya gas berupa CO<sub>2</sub> sehingga diklasifikasikan sebagai fermentasi tipe heterofermentatif karena menghasilkan dua produk yaitu asam dan gas. Jika fermentasi hanya menghasilkan asam saja diklasifikasikan sebagai tipe homofermentatif (Saryono et al., 2023).

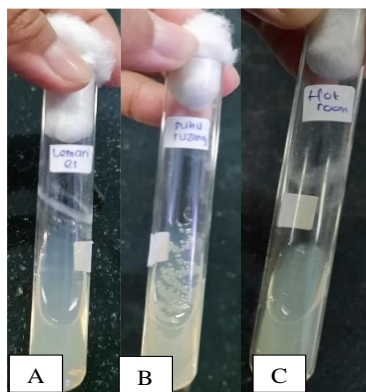
Uji katalase bertujuan mengetahui kemampuan *B. flexus* dalam memproduksi enzim katalase. Enzim katalase merupakan enzim yang mampu memecah hidrogen

peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) menjadi air dan oksigen (Khatoon et al., 2022). Pada hasil uji, bakteri *B. flexus* mampu memproduksi enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung. Gelembung yang dihasilkan merupakan gas oksigen hasil pemecahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Strain *Bacillus* seperti *B. aryabhatai* dan *B. megaterium* telah diteliti mampu menghasilkan enzim katalase (Saeed et al., 2023).

Uji Faktor abiotik seperti suhu, pH dan tekanan osmose pada media dilakukan untuk mengetahui faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas metabolisme bakteri. Hasil pengamatan pada Tabel 2 menunjukkan *Bacillus flexus* tidak dapat tumbuh pada suhu dingin (4°C) dan pada suhu panas (55°C) ditandai dengan kondisi media tetap kuning bening pada gambar 1. Sedangkan pada suhu ruang (24-26°C) menunjukkan pertumbuhan *Bacillus flexus* yang ditandai dengan perubahan warna media cair menjadi kuning keruh. Indikator keruh pada media cair menunjukkan hasil dari pertumbuhan bakteri pada media NB (*Nutrient Broth*).

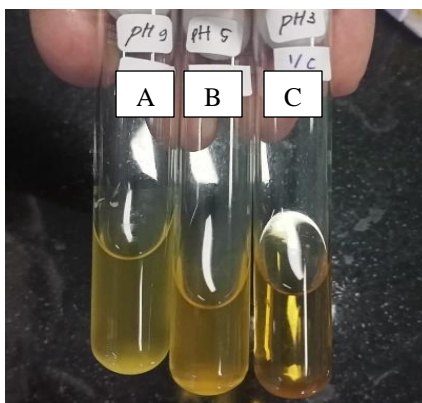
Tabel 2. Uji Faktor Abiotik terhadap *Bacillus flexus*

No	Suhu			pH			Tekanan osmose					
	4°C	24-26°C	55°C	3	5	9	Sukrosa			NaCl		
							40%	4%	0,4%	30%	3%	0,3%
<b>Ulangan 1</b>	-	++	-	-	++	+++	+++	++	+	+++	++	+
<b>Ulangan 2</b>	-	++	-	-	++	+++	++	+++	++	+++	++	+



Gambar 1. Pengaruh suhu, A: Suhu dingin/ 4°C, B: Suhu ruang / 24-26°C, C: Suhu Panas/55°C

*Bacillus flexus* tidak tumbuh pada pH 3 atau asam. Tidak terjadi perubahan warna media setelah bakteri diinokulasikan pada media cair dalam kondisi asam Gambar 2. Pada ketiga perlakuan menunjukkan perubahan warna media menjadi lebih keruh pada pH 5 dan cenderung lebih keruh pada pH 9.



Gambar 2. Pengaruh pH; A; pH 9, B: pH 5, C: pH 3

Secara keseluruhan dari perlakuan yang dilakukan *Bacillus flexus* optimal tumbuh pada suhu ruang 24-26°C dan kondisi pH 5-9. *Bacillus flexus* merupakan bakteri mesofilik atau bakteri yang optimal tumbuh pada suhu sedang. Genus *Bacillus* tergolong bakteri alkafilik yaitu toleran kondisi pH yang tinggi, memiliki rentang pH yang luas (4,0–12) dan terhambat pada kondisi asam (Jasmin et al., 2024).

Penelitian ini menggunakan dua jenis tambahan zat terlarut pada media yaitu sukrosa dan NaCl. Konsentrasi sukrosa 40% menunjukkan pertumbuhan koloni yang lebih banyak dibandingkan pada konsentrasi sukrosa 4 % dan 0,4 %. Genus *Bacillus* memiliki kemampuan untuk menggunakan sumber karbon dari sukrosa untuk pertumbuhan.

Perlakuan dengan penambahan zat terlarut NaCl pada media menunjukkan pertumbuhan yang sama antara konsentrasi NaCl tertinggi (30%) dan Konsentrasi NaCl sedang (3%). Konsentrasi NaCl paling rendah (0,3%) menunjukkan pertumbuhan yang paling sedikit. *Bacillus flexus* memiliki toleransi dengan kondisi salin karena bakteri ini banyak diisolasi dari air laut (Al Farraj et al., 2020).

*Bacillus flexus* merupakan bakteri yang adaptif dan memiliki banyak fungsi.

Kemampuannya dalam memfermentasi berbagai karbohidrat, serta bertahan dalam kondisi ekstrem (tinggi garam, gula, dan pH basa) menjadikannya kandidat potensial untuk aplikasi di bidang bioteknologi industri, pangan, dan lingkungan. Karakteristik ini memperkuat posisi *B. flexus* sebagai bagian dari genus *Bacillus* yang dikenal luas karena ketahanan dan kemampuannya dalam produksi metabolit sekunder bernilai ekonomi tinggi (Wagle et al., 2019).

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 Kesimpulan

*Bacillus flexus* menunjukkan aktivitas enzimatik yang kuat, termasuk kemampuan menghidrolisis pati (produksi amilase), memfermentasi glukosa, laktosa, dan manitol (heterofermentatif), serta menghasilkan enzim katalase. Hal ini mengindikasikan potensinya sebagai penghasil enzim industri dan agen biodegradasi. *B. flexus* tumbuh optimal pada suhu ruang (24–26°C), toleran terhadap kondisi basa (pH 5–9), toleran pada kondisi salin, dan menggunakan sukrosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan optimal tercapai pada konsentrasi sukrosa tinggi (40%) dan NaCl hingga 30%, menunjukkan adaptasi sebagai bakteri halotoleran yang cocok untuk lingkungan salin.

##### 4.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengukuran nilai OD untuk mengetahui tingkat kekeruhan pada pertumbuhan bakteri. Selain itu, perlu dilakukan uji lebih lanjut terkait kemampuan produksi enzim dari *Bacillus flexus*.

#### 5. REFERENSI

- Al Farraj, D. A., Kumar, T. S. J., Vijayaraghavan, P., Elshikh, M. S., Alkufeidy, R. M., Alkubaisi, N. A., & Alshammari, M. K. (2020). Enhanced production, purification and biochemical characterization of therapeutic potential fibrinolytic enzyme from a new *Bacillus flexus* from marine environment. *Journal of King Saud University - Science*, 32(7), 3174–3180. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.09.004>
- Batool, F., Shahid, M., Mahmood, F., Shahzad, T., Azeem, F., Hussain, S., Algarni, T. S., Elshikh, M. S., Wed, W. A., & Mustafa, S. (2024). Biosynthesis of copper nanoparticles



- using *Bacillus flexus* and estimation of their potential for decolorization of azo dyes and textile wastewater treatment. *Journal of King Saud University - Science*, 36(8). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2024.103309>
- Cappuccino, J. ., & Sherman, N. (2014). *Manual Laboratorium Biologi*. EGC.
- Dida, G. (2018). Isolation and Characterization of Starch Degrading Rhizobacteria. *Open Access Journal of Microbiology & Biotechnology*, 3(2), 1–8. <https://doi.org/10.23880/oajmb-16000129>
- Jannah, S. N., Rahmadias Hanifa, Y., Utomo, A. B., Kurnia, A., Prambodo, D., Arina, D., & Lunggani, T. (2021). Isolasi dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri Symbion Padina sp. dari Pantai Lengkuas Belitung Isolation and Potential of Bacterial Hydrolase Enzymes Symbion Padina sp. from Lengkuas Beach Belitung. *Bioma*, 23(1), 11–17.
- Jasmin, M. Y., Isa, N. M., Kamarudin, M. S., Lim, K. C., & Karim, M. (2024). Evaluating *Bacillus flexus* as bioremediators for ammonia removal in shrimp culture water and wastewater and characterizing microbial communities in shrimp pond sludge. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(1), 529–536. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01246-9>
- Jebeli, M. A., Maleki, A., Amoozegar, M. A., Kalantar, E., Izanloo, H., & Gharibi, F. (2017). *Bacillus flexus* strain As-12, a new arsenic transformer bacterium isolated from contaminated water resources. *Chemosphere*, 169, 636–641. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.129>
- Kali, A., Srirangaraj, S., & Charles, P. M. V. (2015). A cost-effective carbohydrate fermentation test for yeast using microtitre plate. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 33(2), 293–295. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.154884>
- Khatoon, H., Chavan, D. D., Anokhe, A., & Kalia, V. (2022). *AgriCos e-Newsletter*. January.
- Magdalena, S., Giovani, F., & Yogiara, Y. (2021). Evaluation of the potentials of *Bacillus subtilis* KM16 and *Pseudomonas* sp. PAP 26 isolated from the hot spring and crater lakes as antibiofilm agents. *International Journal of Applied Biology*, 5(1), 83–94. <https://54.254.27.92/index.php/ijoab/article/view/13429>
- Maktabdar, M., Hansen, L. T., Wemmenhove, E., Gkogka, E., & Dalgaard, P. (2024). Prevalence, Characteristics, and Selection of *Bacillus cereus* Subgroups from Dairy Products for Challenge Testing and Predictive Model Development. *Journal of Food Protection*, 87(11), 100367. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100367>
- Milek, J., & Lamkiewicz, J. (2022). The starch hydrolysis by  $\alpha$ -amylase *Bacillus* spp.: an estimation of the optimum temperatures, the activation and deactivation energies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 147(24), 14459–14466. <https://doi.org/10.1007/s10973-022-11738-1>
- Moraes, G. F. Q., Cordeiro, L. V., & de Andrade Júnior, F. P. (2021). Main laboratory methods used for the isolation and identification of *Staphylococcus* spp. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas (Colombia)*, 50(1), 5–28. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n1.95444>
- Mulla, S. I., Ameen, F., Tallur, P. N., Bharagava, R. N., Bangeppagari, M., Eqani, S. A. M. A. S., Bagewadi, Z. K., Mahadevan, G. D., Yu, C. P., & Ninnekar, H. Z. (2017). Aerobic degradation of fenvalerate by a Gram-positive bacterium, *Bacillus flexus* strain XJU-4. 3

- Biotech*, 7(5), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0957-5>
- Saeed, S. W. Z., Naseer, I., Zahir, Z. A., Hilger, T., Shahid, S., Iqbal, Z., & Ahmad, M. (2023). Bacillus Strains with Catalase Enzyme Improve the Physiology and Growth of Rice (*Oryza sativa* L.). *Stresses*, 3(4), 736–748. <https://doi.org/10.3390/stresses3040050>
- Saryono, Ismawati, Pratiwi, N. W., Devi, S., Sipayung, M. Y., & Suraya, N. (2023). Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditional food sarobuung of Kuantan Singingi District, Riau, Indonesia. *Biodiversitas*, 24(4), 2201–2206. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240432>
- Sianipar, G. W. S., Sartini, S., & Riyanto, R. (2020). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 2(2), 83–92. <https://doi.org/10.31289/jibioma.v2i2.312>
- Sura, N. K., & Hiremath, L. (2019). Isolation of Bacillus megaterium and its Commercial Importance. *International Journal of ChemTech Research*, 12(04), 30–36. <https://doi.org/10.20902/ijctr.2019.120405>
- Wagle, A. R., Dixit, Y. M., & Vakil, B. V. (2019). Scale Up Studies for Polyhydroxyalkanoate Production by a Bacillus flexus Strain with Industrial Potential. *Indian Journal of Microbiology*, 59(3), 383–386. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00807-z>
- Waluyo, L. (2018). *Bioremediasi Limbah: Limbah* (Vol. 1). UMM Press.
- Wanger, A., Chavez, V., Huang, R. S. P., Wahed, A., Actor, J. K., & Dasgupta, A. (2017). Chapter 5 - Biochemical Tests and Staining Techniques for Microbial Identification (A. Wanger, V. Chavez, R. S. P. Huang, A. Wahed, J. K. Actor, & A. B. T.-M. and M. D. in P. Dasgupta (eds.); pp. 61–73). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805351-5.00005-3>
- Wardi, C. M., & Al-Hadidy, Y. I. (2023). Effectiveness of Bacillus clausii and Bacillus megaterium on some Physiological and Biochemical Parameters in Rats That Induced Diarrhea. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1158(11). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1158/11/112012>