

Bakteri *Bacillus* Sebagai Agen Kontrol Hayati dan Biostimulan Tanaman

Arkan Setiaji¹, Raden Roro Rifka Annisa², Deris Trian Rahmandias³

¹Fakultas Pertanian IPB University

Jl Meranti, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680 Jawa Barat

²Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

Jl Teknika Selatan Sekip Utara Bulaksumur 55281 Yogyakarta

³Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

Jl Veteran Ketawanggede Lowokwaru Kota Malang 65145 Jawa Timur

*arkantoji@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v16i1.17207>

Abstrak

Salah satu kendala jangka panjang dalam produktivitas pertanian adalah ketergantungan petani terhadap pestisida sintetik. Aplikasi pestisida menimbulkan dampak negatif terhadap ekosistem dan kesehatan manusia. Pemanfaatan mikroorganisme seperti bakteri *Bacillus* sebagai agen kontrol hayati merupakan suatu alternatif untuk mengurangi penggunaan pestisida sintetik. Pembahasan yang lebih sederhana mengenai interaksi antara *Bacillus* dan tumbuhan perlu dilakukan. Artikel ini bertujuan untuk mengulas mekanisme peranan *Bacillus* sebagai agen kontrol hayati dan biostimulan pada tanaman. *Bacillus* merupakan genus bakteri yang dapat digunakan sebagai agen kontrol hayati karena adaptif, mampu membentuk endospora dan toleran terhadap berbagai kondisi lingkungan. Sifat tersebut menguntungkan dalam kompetisi dengan fitopatogen melalui mekanisme antibiosis berupa produksi toksin. Infeksi *Bacillus* terhadap tumbuhan mampu menstimulus munculnya resistensi sistemik sebagai mekanisme pertahanan awal pada tumbuhan. *Bacillus* yang berasosiasi dengan tanaman dapat memberikan efek stimulasi pertumbuhan karena metabolit yang dihasilkan mampu memicu sensitifitas sistem perakaran untuk absorpsi nutrisi serta merangsang regulasi zat pengatur tumbuh seperti sintesis auksin, giberelin, dan sitokinin. Berdasarkan ulasan tersebut, penggunaan agen hayati dan biostimulan berbasis *Bacillus* diharapkan mampu mendukung upaya global untuk mencapai target pembangunan yang berkelanjutan khususnya dibidang pertanian.

Kata Kunci : agen hayati, *bacillus*, biostimulan, pathogen, pestisida

Abstract

One of the long-term constraints in agricultural productivity is the dependence of farmers on synthetic pesticides. The application of pesticides has a negative impact on ecosystems and human health. Utilization of microorganisms such as bacteria *Bacillus* as a biological control agent is an alternative to reduce the use of synthetic pesticides. A simpler discussion of the interaction between *Bacillus* and plants is important to carry out. This article aims to review the mechanism of the role of *Bacillus* as a biological control agent and growth stimulant in plants. *Bacillus* is a genus of bacteria that can be used as biological control agents because it is adaptive, capable of forming endospores and tolerant of various environmental conditions. These properties are advantageous in competition with phytopathogens through an antibiosis mechanism in the form of toxin production. *Bacillus* infection of plants is able to stimulate the emergence of systemic resistance as an initial defense mechanism in plants. *Bacillus* associated with plants can provide a growth stimulation effect because the metabolites produced are able to trigger the sensitivity of the root system for nutrient absorption and stimulate the regulation of growth regulators such as the synthesis of auxin, gibberellins, and cytokinins. Based on these reviews, the use of based biological agents and biostimulants *Bacillus* is expected to be able to support global efforts to achieve sustainable development targets, especially in the agricultural sector

Keywords : biological control agent, *bacillus*, biostimulant, pathogen, pesticide

PENDAHULUAN

Pertanian merupakan salah satu aspek utama dalam pembangunan ekonomi, sosial, dan lingkungan hidup, karena sektor ini krusial terhadap ketersediaan pangan bagi 9,7 miliar penduduk dunia pada 2050 (World Bank, 2022). Namun, dalam tiga dekade terakhir, sekitar 20-

30% produksi pertanian tahunan telah terdampak oleh hama dan penyakit yang berasal dari jamur, bakteri, nematoda, virus, dan serangga (Savary et al., 2012). Guna mengatasi hal tersebut, berbagai senyawa sintetik pestisida (insektisida, fungisida, dan nematisida) secara luas telah digunakan. Bagaimanapun, suksesnya pengaplikasian pestisida untuk meningkatkan produktivitas pertanian menimbulkan dampak negatif terhadap ekosistem dan kesehatan manusia.

Article History:

Received: October 24th, 2022; **Accepted:** February 18th, 2023

Cite this as:

Setiaji, A., Annisa, R.R.R., Rahmandias, D.T. (2023). *Bakteri bacillus sebagai agen kontrol hayati dan biostimulan tanaman*. Rekayasa. Vol 16(3) 96-106.

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen kontrol hayati merupakan suatu alternatif untuk mengurangi hingga menghilangkan penggunaan pestisida sintetik. Hubungan antagonistik antar mikroba telah lama dipelajari untuk pengembangan produk agen kontrol hayati. Pada bakteri, beberapa penelitian berfokus pada interaksi antagonis antara patogen dan inangnya (Ferniah *et al.*, 2012; Pradana *et al.*, 2015; Verma *et al.*, 2017).

Riset tentang agen biokontrol pertama kali dilakukan pada awal abad ke-19, menggunakan mikroorganisme atau pun metabolitnya untuk mengatasi penyakit pada tanaman pangan (Singh & Yadav, 2020). Kelompok bakteri yang paling banyak digunakan diantaranya *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. fluorescens*), *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. serta sebagian kecil dari familia Enterobacteriaceae (Mishra & Arora, 2018). Genus *Bacillus* seringkali dipilih karena kemampuannya membentuk endospora dan memiliki beragam mekanisme antagonistik. Genus *Bacillus* memiliki keragaman spesies dan tingkat kelimpahan pada agroekosistem yang lebih tinggi dibandingkan dengan genera lainnya (Saxena *et al.*, 2020). Tingkat keberlangsungan hidup yang tinggi dan adaptif terhadap kondisi cekaman tertentu juga menjadi keunggulan lainnya (Gingichashvili *et al.*, 2019). Bakteri ini memiliki produk metabolit yang beragam dan potensial sebagai antibiotik (Sumi *et al.*, 2015).

Riset-riset terkait pengaruh tingginya keragaman mikroba pada zona rhizosfer untuk mengontrol fitopatogen telah lama dieksplorasi. Rhizosfer merupakan pertahanan pertama tumbuhan terhadap fitopatogen edafik yang menghambat tumbuhnya perakaran (Zhalnina *et al.*, 2018). Mekanisme agen kontrol hayati dalam memengaruhi pertumbuhan, perkembangan, dan pola infeksi fitopatogen, meliputi: a) hiperparasitisme dan predasi (Chen *et al.*, 2016); b) produksi senyawa dengan berat molekul ringan dan memiliki efek langsung, seperti antibiotik (fenazin, 2,4-diacetylfloroglucinol, lipopeptida siklik), enzim litik (kitinase, glukonase, protease), atau metabolit residu (amonia, karbon dioksida, asam sianida) (Raaijmakers & Mazzola, 2012; Bouizgarne, 2013); dan c) melalui mekanisme pertahanan tidak langsung, seperti kompetisi untuk ruang hidup, penyerapan nutrisi, konsumsi eksudat akar, produksi siderofor, dan induksi

respon pertahanan sistemik (Pal & Gardener, 2006; Yu *et al.*, 2011; Chowdhury *et al.*, 2015; Yeom *et al.*, 2017).

Berbagai penelitian molekuler menunjukkan bahwa sekitar 4% genom *Bacillus* terkait dengan produksi senyawa metabolit sekunder untuk mengontrol fitopatogen, bahkan pada *B. amyloliquefaciens* FZB42 mencapai 8,5% (Raaijmakers & Mazzola, 2012). *Bacillus* spp. juga dapat berperan sebagai rhizobakteri yang merangsang pertumbuhan tanaman (biostimulan). Artikel ini bertujuan untuk mengulas secara umum mekanisme bakteri *Bacillus* sebagai agen kontrol hayati dan biostimulan pada tanaman.

METODE PENELITIAN

Artikel review ini mengulas, merangkum, dan mengaitkan berbagai penelitian-penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan topik aplikasi bakteri *Bacillus* untuk pertanian. Tinjauan pustaka dilakukan pada artikel jurnal dan buku yang muncul dengan kata kunci kombinasi: *antibiotics, antifungi, Bacillus, biopesticide, crop protection, ISR, SAR, product-based* pada *search engine* Google Cendekia (*Google Scholar*). Sebanyak 71% artikel yang digunakan, terbit dalam 10 tahun terakhir (2012-2022).

HASIL PEMBAHASAN

Tinjauan Umum Genus *Bacillus*

Bacillus merupakan bakteri gram positif, berbentuk rod (basil pendek), dan termasuk dalam filum Firmicutes dengan jumlah spesies sekitar 266. *Bacillus* dapat hidup pada kondisi aerob obligat atau anaerob fakultatif. Pada kondisi kekurangan nutrisi atau terjadi cekaman kekeringan, bakteri ini akan membentuk endospora (Hutchison *et al.*, 2014). Spesies dalam genus *Bacillus* dapat bersifat termofilik, psikrofilik, acidofilik, alkalifilik, halotoleran, atau halofilik, serta mampu tumbuh pada rentang pH, temperatur, dan salinitas dimana banyak mikroorganisme lain tidak dapat bertahan hidup.

Ketika *Bacillus* berada pada kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti saat terjadinya fluktuasi temperatur, osmolaritas, atau ketersediaan sumber karbon di lingkungan, sel bakteri beralih ke fase letargi, mengalami perlambatan pertumbuhan (fase stasioner). Dalam hal ini, *Bacillus* mengembangkan respon adaptasi dengan meningkatkan kemampuan motilitas,

pengambilan DNA eksogen melalui transformasi genetik, hingga produksi antibiotik atau enzim degradatif ekstraseluler (Burns *et al.*, 2013).

Antibiotik dari Senyawa Metabolit Sekunder

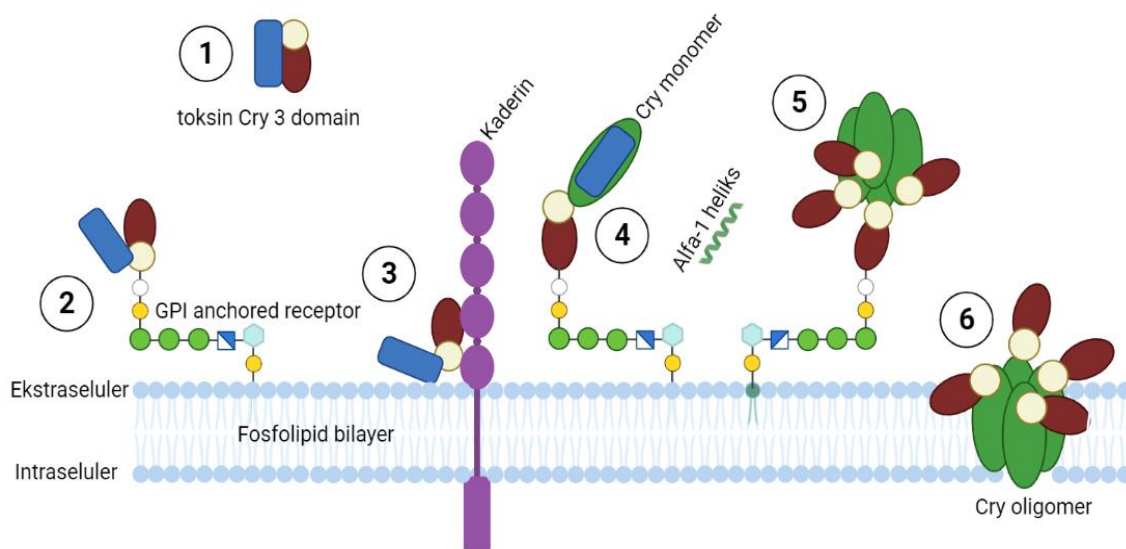
Bakteri yang memiliki kemampuan antibiosis yang tinggi, seperti *B. subtilis* mampu menghambat kompetitor dengan parasitisme. Mekanisme antibiosis memiliki spektrum yang luas, salah satunya dengan produksi toksin. Toksin untuk menghambat cendawan sejauh ini adalah yang paling efektif dibandingkan dengan mekanisme aksi lainnya (Le Roux *et al.*, 2014).

Bacillus memproduksi beragam metabolit antifungi, diantaranya lipopeptida dari surfaktin, iturin, dan fengisin. Peptida tersebut merupakan senyawa siklik dari 7 atau 10 rantai asam amino yang berhubungan dengan β -amino (iturin) atau asam lemak β -hydroxy (surfaktin dan fengisin). Panjang rantai asam lemak bervariasi mulai dari C13 hingga C16 untuk surfaktin dan C14 hingga C18 untuk fengisin (Ongena *et al.*, 2005). Meskipun mirip secara struktural, surfaktin, iturin, dan fengisin berbeda dalam hal aktivitas biologisnya. Sebagai contoh, iturin dan fengisin menunjukkan aktivitas antifungi yang tinggi dan mampu menghambat pertumbuhan dari banyak jenis fitopatogen lainnya. Sedangkan surfaktin, bukanlah senyawa fungitoksik, namun menghasilkan efek sinergisme sebagai antifungi ketika diekskresikan bersama iturin A (Jasim *et al.*, 2016).

Pada kasus *Phytobacter*, surfaktin memiliki kemampuan antibakteri yang lemah, namun iturin yang dihasilkan dapat berperan sebagai inhibitor bakteri Gram-positif. Bais *et al.* (2004) melakukan pengujian untuk mengetahui peran surfaktin dari *B. subtilis* dalam mengontrol pertumbuhan bakteri *Pseudomonas syringae* pada akar *Arabidopsis*. Strain mutan M1 dengan delesi pada gen *surfactin synthetase* yang bertanggung jawab terhadap kehilangan kemampuan sintesis surfaktin, tidak efektif dalam mengontrol pertumbuhan *P. syringae* dan pembentukan biofilm *B. subtilis* pada permukaan akar oleh *B. subtilis*. Berdasarkan pengamatan tersebut, penulis mengonfirmasi bahwa aktivitas antagonistik dan kemampuan untuk membentuk biofilm, berhubungan langsung dengan kemampuan sintesis surfaktin.

Beberapa spesies *Bacillus* juga memiliki kemampuan memproduksi senyawa volatil dengan aktivitas antifungi. Banyak dari senyawa ini memiliki struktur yang unik yang tidak diproduksi kebanyakan mikroba lainnya (Wenke *et al.*, 2010). Chen *et al.* (2008) menemukan 14 senyawa volatil dari *B. subtilis*, yang diidentifikasi melalui metode *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS). Namun ada juga senyawa yang umum ditemukan sebagai antifungi di patosistem lainnya, seperti *2-ethyl-hexanol*, *2,4-bis(2-methylpropyl)phenol*, *4-hydroxybenzaldehyde*, dan *2-nonanone* (Chen *et al.*, 2008b).

Produksi enzim yang berperan dalam degradasi



Gambar 1. Mekanisme aksi protein Cry dalam tubuh serangga; modifikasi dari Xu *et al.* (2014)

dinding sel fitopatogen merupakan salah satu aspek yang paling awal diteliti, khususnya pada patogen jamur. Dinding sel jamur tersusun atas glikoprotein, polisakarida, dan beragam komponen lainnya (Ruiz-Herrera & Ortiz-Castellanos, 2019). Fraksi polisakarida menyusun 80% komponen dinding sel jamur, sebagian berupa kitin (~10-20%) dan glukukan (~50-60%), yang mana masing-masing terdiri dari residu β -1,3-glucose dan β -1,4-N-acetylglucosamine (Muszewska *et al.*, 2018). Polimer tersebut berperan penting dalam kekuatan dinding sel melalui jejaring ikatan glikosidik yang luas. Adanya interferensi dalam ikatan tersebut dapat melemahkan dinding sel jamur, sehingga menyebabkan lisis dan kematian sel.

Produksi enzim litik, seperti kitinase (EC 3.2.1.14) dan β -glukanase (EC 3.2.1.6 dan EC 3.2.1.39) yang diekskresikan oleh *Bacillus*, menunjukkan efek penghambatan yang kuat terhadap jamur (Edison *et al.*, 2018). Enzim tersebut mampu mendegradasi polisakarida dengan menghidrolisis ikatan glikosidiknya. Peranan enzim litik pada *Bacillus* telah diketahui secara luas. Les *et al.* (2020) menemukan peranan kitinase *B. subtilis* SL-13 untuk mengontrol *Rhizoctonia solani*. Chien-Jui *et al.* (2004) melakukan kloning gen *chiCW* dari *B. cereus* 28-9 pada *Escherichia coli* DH5 α dan menemukan metabolit yang telah dipurifikasi memiliki daya hambat terhadap germinasi spora *Botrytis elliptica*. β -glukanase merupakan komponen penting dalam kemampuan antagonistik genus *Bacillus*; Aktuganov *et al.* (2007) melaporkan bahwa β -1,3-glukanase adalah enzim utama yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. 739 untuk mengontrol *Bipolaris sorokiniana*, dan pengujian bersama dengan *B. amyloliquefaciens* MET0908 menunjukkan adanya aktivitas litik dari β -1,3-glukanase terhadap hifa *Colletotrichum lagenarium*.

Salah satu mekanisme kontrol yang paling banyak diteliti adalah kemampuan *Bacillus* memproduksi δ -endotoxin. Mekanisme ini menjadi titik balik pengembangan produk biopestisida secara global untuk mengontrol Lepidoptera menggunakan *B. thuringiensis* var. kurstaki HD-1. *B. thuringiensis* (Bt) memproduksi protein Cry (*Bt*- δ -endotoxin) selama pembentukan spora. Protein ini mampu melisis sel inang pada saat berada di saluran pencernaan serangga target. Strain HD-1 membawa beragam gen antilepidoptera, seperti *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry2Aa*, *cry2Ab* and *cry1Ia*

(Höfte & Whiteley, 1989; Sauka & Benintende, 2008).

Toksin Bt merupakan protein paraspora yang tersusun dari unit-unit polipeptida dengan berat molekul mulai dari 27-140 kDa, dan sejauh ini 300 holotipe toksin Bt telah dilaporkan (Chattopadhyay & Banerjee, 2018). Toksin Bt disintesis selama fase sporulasi; digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu 1) protein Cry (crystal) yang mana berupa toksin spesifik khususnya untuk serangga dan 2) protein Cyt (cytotoxic) yang memiliki toksisitas terhadap kebanyakan serangga, termasuk diptera. Protein Cry lebih umum dipilih sebagai bahan aktif biopestisida. Mekanisme aksinya dimulai ketika protein Cry dalam bakteri yang ikut termakan serangga, dipecah dengan protease yang terdapat dalam mesenteron serangga, sehingga terjadi pemisahan bagian asam amino di region awal N-terminus dan akhir C-terminus. Fragmen ini kemudian lepas dan menjadi toksik ketika berinteraksi dengan protein reseptor pada sel saluran cerna (Gambar 1). Fragmen tersebut dikenali oleh reseptor spesifik dalam membran dan dimasukkan ke dalam sel melalui kaderin (1), persinyalan berlanjut dengan pembentukan struktur oligomerik pra-porous (2-3), dan menjadi struktur porous litik (4), yang memicu ketidakseimbangan osmotik. Hal tersebut menyebabkan sel epitelium lisis dan mati (5) (Xu *et al.* 2014).

Induksi Ketahanan Sistemik

Selama evolusi berlangsung, tumbuhan mengembangkan mekanisme pertahanan diri terhadap invasi patogen (bakteri, fungi, nematoda, serangga, dll.). Mekanisme ini secara laten ada dan bisa dimunculkan dengan adanya stimulus melalui infeksi patogen. Secara umum mekanisme ini dikenal dengan istilah 'resistensi yang didapat secara sistemik' (*systemic acquired resistance* (SAR)). SAR tidak hanya diaktivasi pada situs infeksi namun juga secara sistemik muncul di jaringan-jaringan lainnya (Pieterse *et al.*, 2014).

Upaya perlindungan tanaman pangan utama (tomat, jagung, kacang-kacangan, gandum, beras, dsb.) menggunakan mekanisme induksi respon sistemik oleh berbagai strain *Bacillus* telah diteliti secara luas (Choudhary & Johri, 2009; Akram *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2013). *Bacillus* memproduksi beragam molekul elisitor untuk menginduksi respon tersebut, termasuk lipopeptida (Chowdhury

et al., 2015), hormon (Tiwari et al., 2017), dan senyawa volatil (Kim et al., 2015).

SAR diaktivasi melalui penerimaan rangsangan oleh dua reseptor, yaitu *pattern recognition receptors* (PRR) dan *nucleotide-binding-leucine-rich repeats* (NB-LRR) (Pieterse et al., 2014). Stimulasi komponen seluler seperti masuknya kitin jamur atau flagelin patogen (*pathogen-associated molecular patterns* (PAMP) atau *microbe-associated molecular patterns* (MAMP)) akan memicu garis pertahanan pertama yang dikenal sebagai PTI (*PAMP-triggered immunity*). Pada patogen yang dapat menghindari PTI, garis pertahanan kedua akan diaktifkan melalui suatu protein efektor virulensi pada reseptor NB-LRR (Ray et al., 2019). SAR bergantung pada persinyalan asam salisilat yang mengaktifkan gen terkait patogenesis tersebut, yang mana mengkode protein, seperti PR1 yang berperan sebagai antimikrobia (Ali et al., 2018). Respon sistemik yang terinduksi (*induced systemic resistance*, ISR) juga memiliki persinyalan yang mirip dengan SAR melalui stimulus beragam elisitor yang diproduksi oleh mikroba simbiosis (Gao et al., 2015). Baik SAR maupun ISR seringkali disamakan karena kemiripan mekanismenya. Adapun persinyalan pada ISR, bergantung pada asam jasmonat dan etilen (Pieterse et al., 2014).

Berdasarkan uraian di atas, ISR dapat diaktivasi oleh bakteri simbiosis dan/ atau substansi yang dikeluarkannya, sehingga menginduksi mekanisme aksi melawan patogen. Sebagai contoh, Malfanova et al. (2012) mempelajari sintesis lipopeptida dari surfaktin dan fengisin yang diproduksi *B. subtilis* isolat 168. Senyawa tersebut berperan sebagai aktivator ISR pada kacang buncis dan tomat. Senyawa volatil dari *B. subtilis* isolat GB03 berperan penting dalam stimulasi fase induksi pada *Arabidopsis*. Hal ini mampu memicu ISR untuk melawan patogen penyebab penyakit busuk akar, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* (Ryu et al., 2013).

Bacillus Sebagai Biostimulan Pada Tanaman

Stimulasi pertumbuhan tanaman akibat adanya interaksi dengan bakteri pada zona rhizosfer merupakan konsekuensi dari adanya peningkatan fiksasi nitrogen, efisiensi ketersediaan nutrisi, sintesis fitohormon, dan perbaikan kualitas tanah. Peran utama *Bacillus* spp. dalam hal ini adalah kemampuan untuk mengikat nitrogen dan melarutkan fosfat. Bakteri ketika melakukan konversi dinitrogen (N_2) menjadi amonia (NH_3) dan

proses pelarutan fosfat, menggunakan enzim nitrogenase dan fitase. Efeknya adalah mampu mempercepat pertumbuhan tanaman sehingga meningkatkan potensi produktivitasnya.

Sebagian besar bakteri, alga, dan actinomycetes bergantung pada ketersediaan PO_4 dan fosfor anorganik (Pi), karena keduanya berperan vital dalam banyak reaksi pemerolehan energi. Di sisi lain, N_2 anorganik bereaksi dengan cara direduksi, dimana setiap atom akan memperoleh elektron dan menjadi stabil, sehingga menghasilkan ion seperti nitrat (NO_3) atau amonium (NH_4) yang memiliki afinitas yang tinggi untuk difiksasi (Bu et al., 2019). Proses perubahan nutrisi tersebut akan memberikan dampak agronomis yang besar apabila diterapkan pada lahan yang terdegradasi, dimana keragaman mikroorganisme menurun drastis akibat dampak negatif dari penerapan teknik pertanian yang tidak berkelanjutan.

Bacillus yang berasosiasi dengan tanaman dapat memberikan efek positif karena metabolit yang dihasilkan mampu memicu sensitivitas sistem perakaran untuk absorpsi nutrisi (Manjula & Podile, 2005). Bakteri ini juga berperan merangsang regulasi zat pengatur tumbuh selama sintesis auksin, giberelin, dan sitokinin (Tahir et al., 2017). Salah satu efek dari stimulasi pertumbuhan oleh *B. subtilis* adalah dapat mempercepat germinasi. Manjula & Podile (2005) menemukan bahwa biji kacang gude (*Cajanus cajan*) yang ditanam dalam media tanah gambut yang diberi *B. subtilis* AF1 dan kitin, tingkat perkecambahan dan berat keringnya meningkat antara 29-33%. Germinasi juga meningkat pada biji tanaman kapas, jagung, dan kedelai yang disuplementasi dengan *B. subtilis* PRBS1 (Junges et al., 2013). Efek positif ini terus berlanjut hingga pertumbuhan seedling dan fase perkembangan. Semakin cepat beralih menuju fase pendewasaan maka tingkat kematian tanaman akibat patogen semakin rendah karena lebih resisten.

Prospek Produk Komersial Berbasis Bacillus

Penggunaan pestisida sintetis sebagai metode utama untuk mengontrol hama dan penyakit tanaman, telah terbukti meningkatkan produktivitas pertanian secara signifikan. Bagaimanapun, penggunaannya secara berlebihan berakibat pada munculnya resistensi hama terhadap pestisida tersebut dan timbulnya masalah kesehatan manusia dan lingkungan. Solusi alternatif yang ramah lingkungan untuk mereduksi

bahkan menghilangkan penggunaan pestisida sintetik ini telah tiga dekade diupayakan untuk mencapai praktik pertanian yang berkelanjutan (Pérez-García *et al.*, 2011).

Kontrol hama dan penyakit menggunakan agen biologi setidaknya mampu menekan angka kerugian petani. Tingkat keefektifan penggunaan agen kontrol hayati bergantung pada konsistensi penggunaannya dalam jangka waktu menengah hingga panjang. Hal ini dikarenakan pada lahan terbuka, banyak faktor eksternal yang memengaruhi efektivitas agen hayati seperti suhu yang terlalu panas/dingin, adanya hujan yang dapat menghanyutkan bahan, hingga resistensi yang muncul akibat penggunaan pestisida sebelumnya. Agen hayati memiliki efektivitas yang tinggi dalam waktu relatif singkat apabila diterapkan pada tanaman di dalam greenhouse. Namun agen hayati juga bisa diterapkan dan menimbulkan efek jangka panjang pada lahan terbuka dengan cara selain mengeliminasi hama dan patogen, juga memperbaiki kualitas tanah dan keseimbangan ekosistem.

Produk pestisida berbasis agen hayati yang selanjutnya disebut dengan biopestisida merupakan pestisida yang mengandung organisme hidup (jamur, bakteri, yeast, tanaman, dsb.) dan/ atau senyawa yang diekstraksi dari mikroorganisme tersebut, serta bahan penyertanya yang aman bagi manusia dan lingkungan yang ditujukan untuk mengontrol hama dan penyakit khususnya pada tanaman pangan (Tijjani *et al.*, 2016). Biopestisida dikelompokkan menjadi tiga tipe berdasarkan bahan aktifnya: 1) produk biokimia, dengan bahan utama metabolit sekunder; 2) produk semi-sintetik, dengan bahan utama seperti feromon; dan 3) produk berbasis agen hayati, meliputi penggunaan bakteri, virus, jamur, dan protozoa (Chandler *et al.*, 2011).

Pengembangan produk terkait agen hayati, khususnya yang menggunakan prokariota, relatif baru. Bakteri yang pertama kali digunakan adalah *Agrobacterium radiobacter* isolat K84, yang telah diregistrasi oleh U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) pada 1979 untuk menangani penyakit tumor mahkota empedu (*crown gall tumor*) (Fravel, 2005). Sejauh ini 14 bakteri dan 12 jamur telah teregister di USEPA untuk mengontrol penyakit tanaman. Kebanyakan dari produk berbasis mikroorganisme tersebut telah dipasarkan secara luas.

Pada saat ini, penjualan pestisida sintetik mengalami penurunan sebanyak 2% per tahunnya, disisi lain penjualan biopestisida mengalami peningkatan tahunan sebanyak 20% (Yadav *et al.*, 2015). Namun, biopestisida hanyalah bagian kecil dari pasar global proteksi tanaman, hanya sekitar 5% atau 3 miliar USD. Meskipun demikian, pada 2023, penjualan biopestisida diprediksi mampu mencapai tingkat pertumbuhan tahunan majemuk setidaknya 8,64%, atau sekitar lebih dari 4.5 miliar USD (Olson, 2015).

Beberapa alasan ketertarikan pasar terhadap penggunaan biopestisida, diantaranya: 1) terbatasnya potensi resistensi yang muncul dari organisme patogen; 2) penurunan laju penemuan bahan insektisida sintetik yang efektif, disamping perspektif publik yang memang memandang bahan tersebut berbahaya; 3) peningkatan produksi biopestisida yang mengarah kepada spesifitas bahan terhadap patogen; 4) adanya insentif untuk menggunakan produk ramah lingkungan; serta 5) intensifnya interaksi antara produsen dan badan pemerintah terkait kemudahan regulasi produk dan keamanannya.

Terkini, produk berbasis *B. thuringiensis* mengisi 75% pasar biopestisida di seluruh dunia (Olson, 2015), dan telah menjadi kompetitor pestisida sintetik sejak 1980. Beberapa spesies lain seperti *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis* dan *B. amyloliquefaciens*, sukses diimplementasikan untuk pengendalian penyakit jamur. Sebanyak 85% produk bakteri menggunakan *Bacillus* sebagai agen utamanya. Selain karena metabolitnya memiliki spektrum luas untuk melawan banyak patogen, juga karena kemampuan membentuk endospora membuat bakteri ini tahan disimpan dalam jangka waktu lama.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berbagai riset dan aplikasi di lapangan membuktikan bahwa *Bacillus* mampu berperan sebagai agen kontrol hayati dan stimulan pada tanaman, baik melalui induksi sistemik respon pertahanan, penghasilan metabolit toksik, atau pun dengan memengaruhi regulasi zat pengatur tumbuh pada tanaman. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mendalami interaksi antara tanaman dan *Bacillus* untuk mendapatkan formulasi produk yang lebih stabil dan spesifik. Penggunaan agen hayati berbasis *Bacillus* diharapkan mampu mendukung upaya global

untuk mencapai target pembangunan yang berkelanjutan khususnya dibidang pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aktuganov, G. E., Melentiev, A. I., & Varlamov, V. P. (2019). Biotechnological aspects of the enzymatic preparation of bioactive chitooligosaccharides. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 55(4), 323-343. <https://doi.org/10.1134/S0003683819040021>
- Ali, S., Ganai, B. A., Kamili, A. N., Bhat, A. A., Mir, Z. A., Bhat, J. A., Tyagi, A., Islam, S. T., Mushtaq, M., Yadav, P., Grover, A., & Rawat, S. (2018). Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiological Research*, 212, 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.008>
- Bais, H. P., Fall, R., & Vivanco, J. M. (2004). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, 134(1), 307-319. <https://doi.org/10.1104/pp.103.028712>
- Borriss, R. (2011). Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. In *Bacteria in agrobiology: Plant growth responses* (pp. 41-76). Berlin, GER: Springer
- Bouizgarne, B. (2013). Bacteria for plant growth promotion and disease management. In *Bacteria in agrobiology: disease management* (pp. 15-47). Berlin, GER: Springer.
- Bu, Y., Takano, T., & Liu, S. (2019). The role of ammonium transporter (AMT) against salt stress in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 14(8), 1625696. <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1625696>
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., Weintraub, M.N., & Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>
- Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C., & Mahillon, J. (2019). Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. *Frontiers in Microbiology*, 10, 302. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00302>
- Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W. P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1573), 1987-1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390>
- Chattopadhyay, P., & Banerjee, G. (2018). Recent advancement on chemical arsenal of Bt toxin and its application in pest management system in agricultural field. *3 Biotech*, 8(4), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1223-1>
- Chen, H., Wang, L., Su, C. X., Gong, G. H., Wang, P., & Yu, Z. L. (2008). Isolation and characterization of lipopeptide antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. *Letters in Applied Microbiology*, 47(3), 180-186. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02412.x>
- Chen, H., Xiao, X., Wang, J., Wu, L., Zheng, Z., & Yu, Z. (2008). Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. *Biotechnology Letters*, 30(5), 919-923. <https://doi.org/10.1007/s10529-007-9626-9>
- Chen, Y. Y., Chen, P. C., & Tsay, T. T. (2016). The biocontrol efficacy and antibiotic activity of *Streptomyces plicatus* on the oomycete *Phytophthora capsici*. *Biological Control*, 98, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.011>
- Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009). Interactions of *Bacillus* spp. and plants—with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164(5), 493-513. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007>
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42—a review. *Frontiers in Microbiology*, 6, 780. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00780>
- Edison, L. K., Shiburaj, S., & Pradeep, N. S. (2018). Microbial beta glucanase in agriculture. In

- Advances in Microbial Biotechnology* (pp. 53-72). Oakville, CA: Apple Academic Press
- Fabre, F., Rousseau, E., Mailleret, L., & Moury, B. (2012). Durable strategies to deploy plant resistance in agricultural landscapes. *New Phytologist*, 193(4), 1064-1075. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.04019.x>
- Ferniah, R. S., Pujiyanto, S., Purwantisari, S., & Supriyadi, S. (2012). Interaksi kapang patogen *Fusarium oxysporum* dengan bakteri kitinolitik rizosfer tanaman jahe dan pisang. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 56-60. <http://dx.doi.org/10.31258/jnat.14.1.56-60>
- Fravel, D.R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43: 337-359. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924>
- Gao, Q. M., Zhu, S., Kachroo, P., & Kachroo, A. (2015). Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers in Plant Science*, 6, 228. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00228>
- Gingichashvili, S., Duanis-Assaf, D., Shemesh, M., Featherstone, J. D., Feuerstein, O., & Steinberg, D. (2019). The adaptive morphology of *Bacillus subtilis* biofilms: a defense mechanism against bacterial starvation. *Microorganisms*, 8(1), 62. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010062>
- Hammami, I., Rhouma, A., Jaouadi, B., Rebai, A., & Nesme, X. (2009). Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. strains. *Letters in Applied Microbiology*, 48(2), 253-260. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02524.x>
- Höfte, H., & Whiteley, H. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, 53(2), 242-255. <https://doi.org/10.1128/mr.53.2.242-255.1989>
- World Bank. (2022, Sep 30). Agriculture and food. <https://www.worldbank.org/en/topic/agriculture/overview>
- Huang, C. J., Wang, T. K., Chung, S. C., & Chen, C. Y. (2005). Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. *BMB Reports*, 38(1), 82-88. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2005.38.1.082>
- Hutchison, E. A., Miller, D. A., & Angert, E. R. (2016). Sporulation in bacteria: beyond the standard model. *The Bacterial Spore: from Molecules to Systems*, 2(5), 87-102. <https://doi.org/10.1128/9781555819323.ch4>
- Jasim, B., Sreelakshmi, K. S., Mathew, J., & Radhakrishnan, E. K. (2016). Surfactin, iturin, and fengycin biosynthesis by endophytic *Bacillus* sp. from *Bacopa monnieri*. *Microbial Ecology*, 72(1), 106-119. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0753-5>
- Junges, E., Toebe, M., Santos, R. F. D., Finger, G., & Muniz, M. F. B. (2013). Effect of priming and seed-coating when associated with *Bacillus subtilis* in maize seeds. *Revista Ciência Agronômica*, 44, 520-526. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000300014>
- Kim, J. S., Lee, J., Lee, C. H., Woo, S. Y., Kang, H., Seo, S. G., & Kim, S. H. (2015). Activation of pathogenesis-related genes by the rhizobacterium, *Bacillus* sp. JS, which induces systemic resistance in tobacco plants. *The Plant Pathology Journal*, 31(2), 195. <https://doi.org/10.5423%2FPJP.NT.11.2014.0122>
- Kumar, A., Prakash, A., & Johri, B. N. (2011). *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. In *Bacteria in agrobiology: crop ecosystems* (pp. 37-59). Berlin, GER: Springer
- Kumar, P., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2012). *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. *Microbiological Research*, 167(8), 493-499. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.05.002>
- Le Roux, V., Dugravot, S., Campan, E., Dubois, F., Vincent, C., & Giordanengo, P. (2014). Wild Solanum resistance to aphids: antixenosis or antibiosis?. *Journal of Economic Entomology*, 101(2), 584-591. <https://doi.org/10.1093/jee/101.2.584>
- Les, N., Henneberg, L., Nadal, V. G. R., Muller, M., Szemecoviaki, A. G., Carneiro, F. T., & de Souza Jaccoud Filho, D. (2020). Control of *Rhizoctonia solani* with biological products in the seed

- treatment in soybean. *Brazilian Journal of Development*, 6(12), 99919-99935. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n12-470>
- Li, Y., Gu, Y., Li, J., Xu, M., Wei, Q., & Wang, Y. (2015). Biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induces systemic resistance against cucurbits powdery mildew. *Frontiers in Microbiology*, 6, 883. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00883>
- Malfanova, N., Franzil, L., Lugtenberg, B., Chebotar, V., & Ongena, M. (2012). Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8. *Archives of Microbiology*, 194(11), 893-899. <https://doi.org/10.1007/s00203-012-0823-0>
- Manjula, K., & Podile, A. R. (2005). Production of fungal cell wall degrading enzymes by a biocontrol strain of *Bacillus subtilis* AF 1. *Indian Journal of Experimental Biology*, 43, 892-896.
- Mishra, J., & Arora, N. K. (2018). Secondary metabolites of fluorescent pseudomonads in biocontrol of phytopathogens for sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*, 125, 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.12.004>
- Muszevska, A., Piłsyk, S., Perlińska-Lenart, U., & Kruszevska, J. S. (2017). Diversity of cell wall related proteins in human pathogenic fungi. *Journal of Fungi*, 4(1), 6. <https://doi.org/10.3390/jof4010006>
- Olson, S. (2015). An analysis of the biopesticide market now and where it is going. *Outlooks on Pest Management*, 26(5), 203-206. https://doi.org/10.1564/v26_oct_04
- Ongena, M., Jacques, P., Touré, Y., Destain, J., Jabrane, A., & Thonart, P. (2005). Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(1), 29-38. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-1940-3>
- Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52, 347-375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Pradana, A. P., Putri, D., & Munif, A. (2015). Eksplorasi bakteri endofit dari akar tanaman adam hawa dan potensinya sebagai agens hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(3), 73-73. <https://doi.org/10.14692/jfi.11.3.73>
- Pretali, L., Bernardo, L., Butterfield, T. S., Trevisan, M., & Lucini, L. (2016). Botanical and biological pesticides elicit a similar induced systemic response in tomato (*Solanum lycopersicum*) secondary metabolism. *Phytochemistry*, 130, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.04.002>
- Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2012). Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 50, 403-424. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172908>
- Ray, S. K., Macoy, D. M., Kim, W. Y., Lee, S. Y., & Kim, M. G. (2019). Role of RIN4 in regulating PAMP-triggered immunity and effector-triggered immunity: current status and future perspectives. *Molecules and Cells*, 42(7), 503. <https://doi.org/10.14348/2Fmolcells.2019.2433>
- Ruiz-Herrera, J., & Ortiz-Castellanos, L. (2019). Cell wall glucans of fungi. A review. *The Cell Surface*, 5, 100022. <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2019.100022>
- Ryu, C. M., Choi, H. K., Lee, C. H., Murphy, J. F., Lee, J. K., & Kloepper, J. W. (2013). Modulation of quorum sensing in acylhomoserine lactone-producing or-degrading tobacco plants leads to alteration of induced systemic resistance elicited by the rhizobacterium *Serratia marcescens* 90-166. *The Plant Pathology Journal*, 29(2), 182. <https://doi.org/10.5423/2FPPJ.SI.11.2012.0173.R2>
- Sauka, D. H., & Benintende, G. B. (2008). *Bacillus thuringiensis*: general aspects. An approach to its use in the biological control of lepidopteran insects behaving as agricultural pests. *Revista Argentina de Microbiología*, 40(2), 124-140. PMID: 18705497
- Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J. N., & Hollier, C. (2012). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses

- and food security. *Food Security*, 4(4), 519-537. <https://doi.org/10.1007/s12571-012-0200-5>
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D. J. (2020). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, 128(6), 1583-1594. <https://doi.org/10.1111/jam.14506>
- Singh, J., & Yadav, A. N. (Eds.). (2020). *Natural bioactive products in sustainable agriculture*. Springer Nature.
- Singh, U. B., Malviya, D., Singh, S., Imran, M., Pathak, N., Alam, M., Rai, J.P., Singh, R.K., Sarma, B.K., Sharma, P.K., & Sharma, A. K. (2016). Compatible salt-tolerant rhizosphere microbe-mediated induction of phenylpropanoid cascade and induced systemic responses against *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker causing spot blotch disease in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Soil Ecology*, 108, 300-306. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.09.014>
- Sumi, C. D., Yang, B. W., Yeo, I. C., & Hahm, Y. T. (2015). Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(2), 93-103. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0613>
- Tahir, H. A., Gu, Q., Wu, H., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., Colman, M.V., & Gao, X. (2017). Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Frontiers in Microbiology*, 8, 171. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00171>
- Thakur, M., & Sohal, B. S. (2013). Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. *International Scholarly Research Notices*, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/762412>
- Tijjani, A., Bashir, K. A., Mohammed, I., Muhammad, A., Gambo, A., & Musa, H. (2016). Biopesticides for pests control: A review. *Journal of Biopesticides and Agriculture*, 3(1), 6-13.
- Tiwari, S., Prasad, V., Chauhan, P. S., & Lata, C. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens* confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant response to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1510. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01510>
- Verma, P., Yadav, A. N., Kumar, V., Singh, D. P., & Saxena, A. K. (2017). Beneficial plant-microbes interactions: biodiversity of microbes from diverse extreme environments and its impact for crop improvement. In *Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives* (pp. 543-580). Singapore: Springer
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. D. L. (2018). The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 95-130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Wang, W., Chen, L. N., Wu, H., Zang, H., Gao, S., Yang, Y., Xie, S., & Gao, X. (2013). Comparative proteomic analysis of rice seedlings in response to inoculation with *Bacillus cereus*. *Letters in Applied Microbiology*, 56(3), 208-215. <https://doi.org/10.1111/lam.12035>
- Wang, X., Wang, L., Wang, J., Jin, P., Liu, H., & Zheng, Y. (2014). *Bacillus cereus* AR156-induced resistance to *Colletotrichum acutatum* is associated with priming of defense responses in loquat fruit. *PLoS One*, 9(11), e112494. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112494>
- Wenke, K., Kai, M., & Piechulla, B. (2010). Belowground volatiles facilitate interactions between plant roots and soil organisms. *Planta*, 231(3), 499-506. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1076-2>
- Wu, Y., Zhang, D., Chu, J. Y., Boyle, P., Wang, Y., Brindle, I. D., De Luca, V., & Després, C. (2012). The *Arabidopsis* NPR1 protein is a receptor for the plant defense hormone salicylic acid. *Cell Reports*, 1(6), 639-647. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.05.008>
- Xu, C., Wang, B. C., Yu, Z., & Sun, M. (2014). Structural insights into *Bacillus thuringiensis* Cry, Cyt and parasporin toxins. *Toxins*, 6(9), 2732-2770. <https://doi.org/10.3390/toxins6092732>
- Yadav, I. C., Devi, N. L., Syed, J. H., Cheng, Z., Li, J., Zhang, G., & Jones, K. C. (2015). Current status of persistent organic pesticides residues in air,

- water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: A comprehensive review of India. *Science of the Total Environment*, 511, 123-137.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.041>
- Yeom, J. R., Yoon, S. U., & Kim, C. G. (2017). Quantification of residual antibiotics in cow manure being spread over agricultural land and assessment of their behavioral effects on antibiotic resistant bacteria. *Chemosphere*, 182, 771-780.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.084>
- Zhalnina, K., Louie, K. B., Hao, Z., Mansoori, N., da Rocha, U. N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B.P., & Brodie, E. L. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 3(4), 470-480.
<https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>