



Biosintesis nanopartikel perak (AgNP) menggunakan *Bacillus firmus* E65 dan aktivitasnya terhadap mikroba patogen

Yadi Suryadi *, Dwi Ningsih Susilowati , I Made Samudra

Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor, Indonesia

Article history

Diterima:

10 Juni 2021

Diperbaiki:

23 Agustus 2021

Disetujui:

29 Agustus 2021

Keyword

Silver nanoparticle;

antimicrobes;

B. firmus E 65

ABSTRACT

Silver (Ag) in ionic form is toxic to microbial cells, but is environmentally friendly and safe for humans. This study aims to synthesize silver nanoparticles (AgNP) using Gram-positive bacterial isolate (*B. firmus* E65) as a bioreductor and to test its activity as an antimicrobial against *Eschericia coli*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) and the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* under in-vitro assays. AgNP was obtained by adding bacterial culture supernatant *B. firmus* E-65 to 5mM AgNO₃ solution. The formation of AgNP was observed by changing the color of the solution after incubation at 37 °C for 72 hours. The UV-Vis spectrophotometer measurement to AgNP solution showed a maximum wavelength of 425 nm. The particle size of AgNP was 252.1 nm with intensity of 98.90 %. The result of bioassay against *E. coli* showed the greatest inhibition at 50 % AgNP (degree of inhibition (DI) =96.15 %), followed by 25 % AgNP (DI=76.92 %), and 12.5 % AgNP (DI=53.84 %). The bioassay against *Xoo* showed the greatest degree of inhibition was at AgNP 50 % (DI=92.85 %), followed by 25 % AgNP and 12.5 % AgNP (DI=85.71 %). Meanwhile bioassay against *C.gloeosporioides*, the greatest inhibition was observed at 25 % AgNP (DI=94.35 %), followed by 50 % AgNP (DI=91.9 %).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi

Email : yshid@yahoo.co.uk

DOI 10.21107/agrointek.v16i2.10785

PENDAHULUAN

Faktor penyakit tanaman diketahui dapat menyebabkan perubahan bentuk, fungsi, dan memicu terjadinya ketidakstabilan parsial atau kematian bagian tanaman atau keseluruhan. Beberapa mikroba patogen penyebab penyakit tanaman di antaranya *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), *Colletotrichum* sp. (Patil *et al.*, 2017), sementara *E. coli* merupakan patogen penting pada manusia.

Hingga saat ini upaya pengendalian penyakit yang dianggap cepat dan praktis masih mengandalkan pestisida sintetik diantaranya L-kloramfenikol, nikel-dimetilditiokarbamat, fentiazon, probenazol, tekloftalam, fenazin oksida, dan nikel-dimetilditiokarbamat, benomil, carbendzim, propineb, difenoconazol, dan prokloraz (Wu *et al.*, 2015; Sundaram *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016). Meningkatnya kasus resistensi patogen terhadap bahan kimia dan dampak terhadap lingkungan, maka diperlukan alternatif pengendali yang lebih ramah lingkungan dan aman bagi manusia.

Logam Perak telah diketahui berpotensi sebagai antibakteri (Bonde, 2011), antijamur (Mahdizadeh *et al.*, 2015), dan antiinflamasi. Dibandingkan dengan senyawa antibiotik lainnya, ion perak telah banyak digunakan karena memiliki sifat antimikroba untuk melawan patogen dan tidak berbahaya bagi manusia (Carbone *et al.*, 2016). Kemampuan antimikroba, antara lain dapat merusak dinding sel bakteri dan mengganggu metabolisme sel. Dilaporkan daya antimikroba meningkat ketika partikel perak berukuran kecil (nano). AgNP memiliki banyak kegunaan antara lain sebagai detektor, katalis, zat pelapis permukaan, dan antibakteri. AgNP memiliki permukaan yang luas, sehingga meningkatkan kontak dengan bakteri, jamur, dan virus (Le *et al.*, 2012; Patil, 2015). AgNP dilaporkan merusak DNA bakteri setelah masuk ke dalam sel, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak kemudian mati. Luas permukaan AgNP dilaporkan dapat meningkatkan interaksi antara ion perak dengan kelompok tiol sulfidril pada protein. Ion perak akan menggantikan (H^+) dari kelompok tiol sulfidril dan menghasilkan gugus S-Ag yang lebih stabil pada permukaan bakteri, sehingga protein menjadi nonaktif, permeabilitas membran menurun, dan akhirnya menyebabkan kematian seluler (Mukhopadhyay, 2014).

AgNP dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada manusia. Beberapa bakteri patogen yang telah diuji antara lain *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Deljou dan Goudarzi, 2016; Bonde, 2011; Jain *et al.*, 2009).

AgNP dapat disintesis dengan beberapa metode diantaranya secara kimia, fisika, dan biologi. (Loo *et al.*, 2012; Nameirakpam *et al.*, 2012; Ismail *et al.*, 2013). Namun, sintesis kimia dapat menyebabkan absorpsi beberapa senyawa kimia berbahaya pada permukaan yang memiliki efek merugikan pada aplikasinya. Sintesis biologi (biosintesis) yang melibatkan reaksi enzimatik lebih disukai dan dianggap sebagai salah satu cara yang lebih ramah lingkungan, karena menggunakan ekstrak daun tumbuhan, atau mikroba (bakteri dan fungi). Selain itu metode ini cocok untuk bidang pengobatan dan aplikasi biomedis lainnya (Ahmed *et al.*, 2020; Sholkamy *et al.*, 2019).

Penelitian ini bertujuan mensintesis partikel perak nitrat ($AgNO_3$) yang direduksi menggunakan isolat bakteri *B. firmus* E65, dan menguji aktivitas AgNP terhadap pertumbuhan mikroba *E. coli*, Xoo, dan *C. gloeosporioides*.

METODE

Penyiapan Isolat Bakteri *B. firmus* E65 dan Biosintesis AgNP

Biosintesis AgNP dilakukan menggunakan isolat bakteri *B. firmus* E65 berdasarkan metode Deljou dan Goudarzi, (2016). Larutan kultur bakteri dalam media *Luria Bertani* (LB) hasil inkubasi selama 72 jam disentrifugasi (Backman Coulter) dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit pada suhu 25 °C. Supernatan yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam 100 mL labu Erlenmeyer dan ditambahkan larutan $AgNO_3$ 5 mM. Labu Erlenmeyer sebagai kontrol negatif disiapkan tanpa penambahan larutan $AgNO_3$ 5mM, sedangkan kontrol positif yang digunakan berupa 100 mL larutan $AgNO_3$ 5mM tanpa penambahan supernatan. Labu Erlenmeyer kemudian diinkubasi dalam inkubator *shaker* (Memmert-SH30) pada suhu 37 °C selama 72 jam.

Pengukuran Absorbansi dan Ukuran Partikel AgNP

Terbentuknya AgNP dilihat dari perubahan warna larutan (Masakke *et al.*, 2015), dan serapannya diukur menggunakan

spektrofotometer pada kisaran panjang gelombang 300-650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U2000). Keseragaman ukuran partikel perak dianalisis menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer* menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) (Pandit, 2015).

Pengujian Daya Hambat AgNP Terhadap Bakteri *E. coli* dan *Xoo* Secara *In-Vitro*

Metode pengujian daya hambat AgNP terhadap *E. coli* dilakukan menurut metode Jeevan *et al.* (2012). Peremajaan bakteri *E. coli* dilakukan dalam media *Nutrient broth* (NB) dan diinkubasi pada *orbital shaker incubator* (IKA K-260) selama 24 jam. Sebanyak 200 µL kultur bakteri *E. coli* dicampurkan dengan 20 mL media NA dalam tabung reaksi, kemudian divorteks sampai tercampur. Media NA dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai memadat. Potongan kertas saring steril direndam selama 1 jam dalam masing-masing konsentrasi larutan AgNP 100 % (larutan induk), 50 %, 25 %, dan 12,5 % (v/v). Kontrol negatif disiapkan berupa potongan kertas saring yang direndam dalam akuades. Kertas saring yang sudah direndam kemudian ditempelkan di permukaan cawan petri berisi media NA dan diinkubasi.

Bakteri *Xoo* dibiakkan dalam media NB dan diinkubasi pada *orbital shaker* (IKA K-260) selama 72 jam. PSA, kemudian biakan bakteri *Xoo* sebanyak 200 µL ditambahkan pada cawan petri berisi 20 mL media *Potato Sucrose Agar* (PSA) lalu disebar merata dan dibiarkan memadat. Konsentrasi AgNP yang diuji terhadap *Xoo* adalah sama dengan pengujian terhadap bakteri *E. coli* yaitu 12,5 %, 25 %, 50 %, dan 100 % (v/v). Potongan kertas saring steril masing-masing direndam selama 1 jam dalam lautan tersebut, sementara untuk kontrol negatif, potongan kertas saring steril direndam dalam akuades. Kertas saring yang sudah direndam, kemudian ditempelkan di permukaan media PSA dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam (Ahmed *et al.*, 2020). Pengamatan dilakukan setiap 24 jam setelah inokulasi bakteri pada media. Penghambatan AgNP terhadap bakteri diamati dari zona bening yang terbentuk di sekitar kertas saring yang sudah direndam larutan AgNP setelah inkubasi. Pada kajian pendahuluan ini, efektifitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri hanya dibandingkan terhadap AgNP 5mM pada konsentrasi 100 % (larutan induk) yang dibuat sebagai standar (kontrol positif) tanpa membandingkan dengan AgNP komersial. Daya

hambat dihitung berdasarkan rumus Patra *et al.* (2009) dimana:

$$DH = \frac{\text{diameter zona bening perlakuan}}{\text{diameter zona bening kontrol standar}} \times 100\%$$

Pengujian daya hambat AgNP terhadap *C. gloeosporioides* secara *in-vitro*

Uji daya hambat AgNP terhadap jamur dilakukan dengan metode tuang (*pour plate*). Peremajaan *C. gloeosporioides* dilakukan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Sebanyak 1 mL masing-masing konsentrasi larutan AgNP 100 %, 50 %, 25 %, dan 12,5 % (v/v) dicampurkan ke dalam tabung reaksi berisi media PDA yang masih hangat, lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Media PDA dalam cawan petri dilubangi bagian tengahnya menggunakan *cork borer*. Isolat *C. gloeosporioides* diletakkan pada lubang tersebut dan diinkubasi pada suhu kamar. Perlakuan kontrol hanya berisi media PDA dan *C. gloeosporioides*.

Pengukuran daya hambat jamur mengacu pada metode Mahdizadeh *et al.* (2015) dengan modifikasi sebagai berikut:

$$DH = \frac{Lk - Lp}{Lk} \times 100 \%$$

dimana:

DH = daya hambat (%);

Lk = luas koloni pertumbuhan jamur pada kontrol negatif (cm²);

Lp = luas koloni pertumbuhan jamur dengan penambahan AgNP (cm²).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi AgNP dengan UV Vis spektrofotometer dan ukuran AgNP

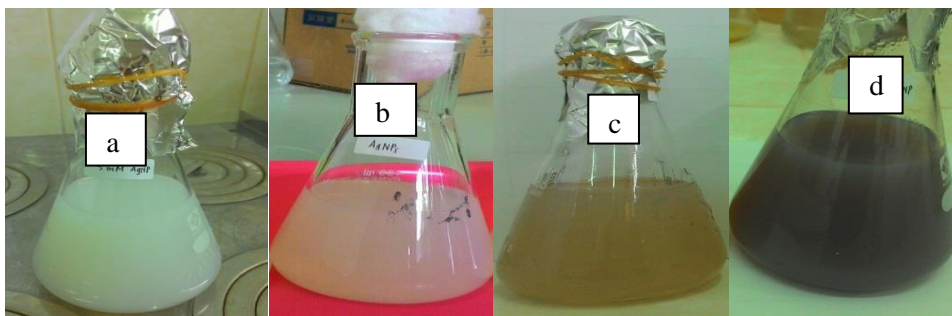
Biosintesis AgNP dapat dilakukan secara ekstraseluler dan intraseluler. Biosintesis intraseluler terjadi di dalam sel dan dibutuhkan langkah lebih lanjut untuk mengeluarkan NP dari dalam sel (Kareem *et al.*, 2019). Pada biosintesis ekstraseluler, reagen bioreduksi yang dibutuhkan dalam bentuk cair dan biosintesis dengan cara ini lebih mudah dilakukan (Deljou dan Goudarzi, 2016). Mikroba yang memiliki kemampuan menyintesis NP logam berasal dari golongan prokariot maupun eukariot. Dalam penelitian ini bakteri yang digunakan sebagai bioreduktor partikel perak adalah isolat *B. firmus* E-65 (koleksi Lab. Konservasi Mikroorganisme BB Biogen). Bakteri dari golongan *Bacillus* dilaporkan

memiliki kemampuan untuk membentuk AgNP (Ahmed *et al.*, 2020). AgNP diperoleh dari larutan AgNO₃ yang semula tidak berwarna berubah menjadi keruh dan berwarna putih kekuningan.

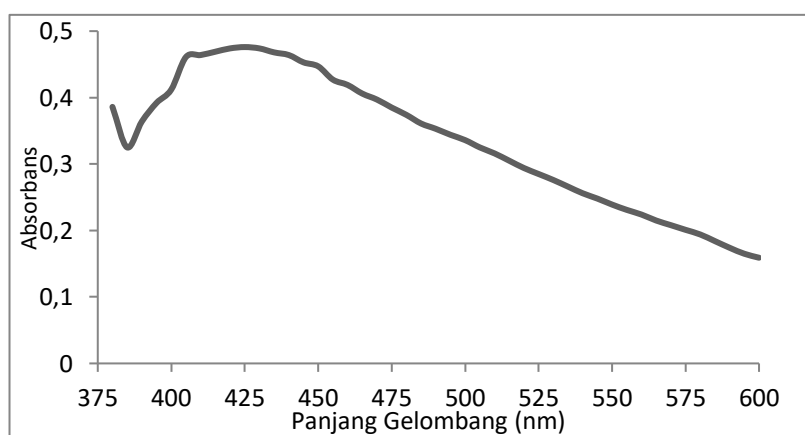
Namun, setelah larutan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam, terjadi perubahan warna menjadi kecokelatan. Intensitas warna semakin meningkat hingga menjadi cokelat setelah 72 jam (Gambar 1). Perubahan warna larutan tersebut disebabkan terjadinya reduksi ion perak menjadi AgNP (Jeevan *et al.*, 2012; Dhulhaj *et al.*, 2012). Reduksi ion AgNP terlihat secara fisik dari perubahan warna larutan yang terjadi, sementara pada pengukuran AgNP yang disintesis bioreduktor bakteri *B. firmus* E-65 menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 425 nm (Gambar 2) yang merupakan indikasi bahwa AgNP telah terbentuk (Owaid *et al.*, 2020). AgNP dilaporkan memiliki serapan yang kuat pada kisaran panjang gelombang 400-500 nm (Ibrahim *et al.*, 2019). Nilai serapan maksimum yang diperoleh tersebut mendekati nilai serapan maksimum AgNP yang disintesis menggunakan bioreduktor mikroorganisme pada penelitian-penelitian sebelumnya (Deljou dan Goudarzi,

2016; Jeevan *et al.*, 2012). Tanpa perlakuan khusus penambahan senyawa penstabil seperti polifinilpirrolidon (PVP), polietilen glikol (PEG), dan beberapa surfaktan (Chen *et al.*, 2016; Lestari *et al.*, 2019). Karena pada penelitian ini tidak ditambahkan bahan penstabil kemungkinan AgNP yang telah terbentuk mengalami aglomerasi, sehingga tidak menunjukkan puncak serapan.

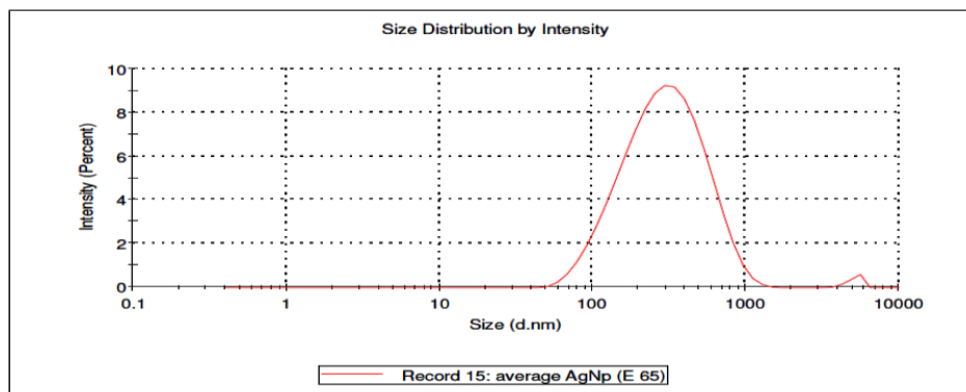
Pengukuran menggunakan PSA memiliki kelebihan yaitu partikel didispersikan ke dalam medium sehingga ukuran partikel yang terukur berupa ukuran dari partikel tunggal. Selain itu, hasil pengukuran berupa distribusi ukuran, sehingga dapat menggambarkan keseluruhan kondisi sampel. Sampel larutan AgNP yang diamati dengan PSA diperoleh ukuran partikel perak sebesar 252,1 nm dengan intensitas sebesar 98,90 % (Gambar 3). Hal tersebut membuktikan bahwa bakteri *B. firmus* E-65 masih dalam dimensi nano. Namun, ukuran partikel yang dihasilkan belum sebaik penelitian-penelitian sebelumnya yang dapat menghasilkan AgNP berukuran kurang dari 100 nm (Deljou dan Goudarzi, 2016; Jeevan *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini intensitas AgNP berukuran < 100 nm masih sangat rendah (19,6 %).



Gambar 1 Perubahan warna larutan AgNP sebelum inkubasi (a); setelah inkubasi 24 jam (b); setelah inkubasi 48 jam (c); dan setelah inkubasi 72 jam (d)



Gambar 2 Spektrum UV-Vis AgNP dengan penambahan AgNO₃

Gambar 3 Ukuran partikel AgNP hasil reduksi isolat *B.firmus* E65

Perbedaan ukuran partikel tersebut kemungkinan dapat disebabkan oleh sifat AgNP yang tidak stabil sehingga mudah teraglomerasi. Selain itu, diduga juga dapat disebabkan isolat *B.firmus* E65 yang digunakan memiliki kemampuan yang berbeda dalam mereduksi ukuran ion perak hingga menjadi AgNP.

Aktivitas antibakteri AgNP

Uji penghambatan AgNP dilakukan secara *in vitro* terhadap dua bakteri, yaitu *E. coli* dan *Xoo*. Daya hambat (DH) terhadap *E. coli* yang dihasilkan masing-masing konsentrasi AgNP berbeda-beda. Nilai penghambatan terhadap *E. coli* terbesar terlihat pada konsentrasi AgNP 50 % dengan diameter zona bening yang terbentuk 13 mm (DH= 96,15 %) dan penghambatan terendah pada AgNP 12,5 % dengan diameter zona bening 7 mm (DH= 53,84 %) (Gambar 4). Penelitian yang dilakukan oleh Pandit (2015) menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi AgNP, maka nilai DH semakin besar. Hasil yang diperoleh sudah sesuai dimana DH pada konsentrasi 50 % berbeda sangat kecil dibandingkan konsentrasi standar AgNP 100 %. AgNP telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* (Bonde, 2011; Deljou dan Goudarzi, 2016; Jeevan *et al.*, 2012). Zona bening di sekitar kertas saring yang sudah direndam dengan larutan AgNP terbentuk setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 25 °C.

AgNP juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Xoo* yang relatif kecil. Diameter zona bening yang terbentuk pada AgNP 100 % sebesar 7 mm (DH= 100 %), kemudian AgNP 50 % (zona bening 6,5 mm; DH 92,85 %), AgNP 25 % (DH= 85,71 %), dan AgNP 12,5 % (DH= 85,71 %) (Gambar 5). Daya hambat AgNP terhadap *Xoo* lebih kecil daripada DH AgNP terhadap *E. coli*. Hal ini kemungkinan diduga karena sifat AgNP yang disiapkan dari *B.firmus*

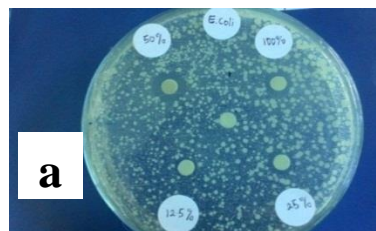
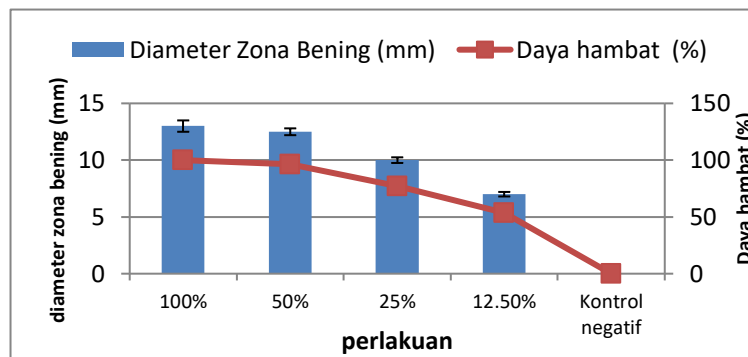
E65 (Gram-positif) bereaksi lebih baik terhadap *E. coli* yang juga termasuk kelompok bakteri Gram-positif, tapi tidak terlalu kuat terhadap *Xoo* (bakteri Gram-negatif). Semakin besar konsentrasi maka semakin banyak partikel perak dalam larutan sehingga menghasilkan DH yang semakin besar. Daya hambat akan menurun seiring dengan menurunnya konsentrasi AgNP. Hasil pengujian terhadap kedua bakteri tersebut membuktikan bahwa AgNP yang dihasilkan memiliki aktivitas antibakteri. AgNP dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri, mengganggu rantai respirasi, dan menghambat replikasi DNA bakteri. AgNP dapat menghambat pembentukan biofilm bakteri sehingga sel bakteri mati. AgNP juga dilaporkan terbukti menghambat beberapa bakteri seperti *P. aeruginosa*, *P. acnes*, *K. pneumoniae* (Pandit, 2015), *S. typhi*, *S. aureus*, dan *S. epidermidis* (Deljou dan Goudarzi, 2016).

Aktivitas antijamur AgNP terhadap *C. gloeosporioides*

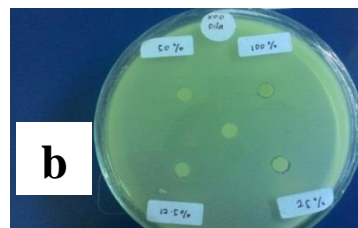
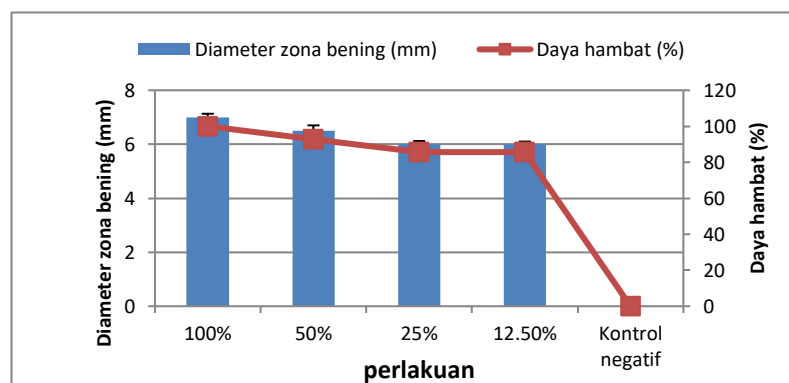
Uji penghambatan AgNP terhadap *C. gloeosporioides* menunjukkan bahwa AgNP juga dapat menghambat pertumbuhan *C. gloeosporioides* (Gambar 6). Daya hambat terhadap jamur menurun seiring dengan menurunnya konsentrasi AgNP. Pada konsentrasi rendah, jumlah AgNP dalam larutan semakin sedikit sehingga kurang efektif menghambat pertumbuhan jamur. Selama 72 jam, cawan petri perlakuan kontrol sudah dipenuhi oleh pertumbuhan hifa jamur. Luas koloni jamur terkecil terlihat pada perlakuan konsentrasi 25 % AgNP dengan nilai DH sebesar 94,35 %. Kemudian luas koloni jamur terbesar (8,13 cm²) terbentuk pada 100 % AgNP dengan nilai DH sebesar 87,21 %. Penelitian yang dilaporkan Mahdizadeh *et al.* (2015); Pulit *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa AgNP memiliki potensi yang besar sebagai antijamur pada uji *in vitro* karena

AgNP dapat mengurai dinding sel hifa jamur. Namun dalam penelitian ini, hasil yang diperoleh masih kurang sesuai karena nilai DH pada konsentrasi 25 % AgNP agak lebih besar (DH= 94,35 %) daripada konsentrasi 50 % AgNP (DH= 91,9 %) dan 100 % AgNP. Hal tersebut dapat disebabkan kurang meresapnya larutan AgNP pada kertas saring sehingga daya

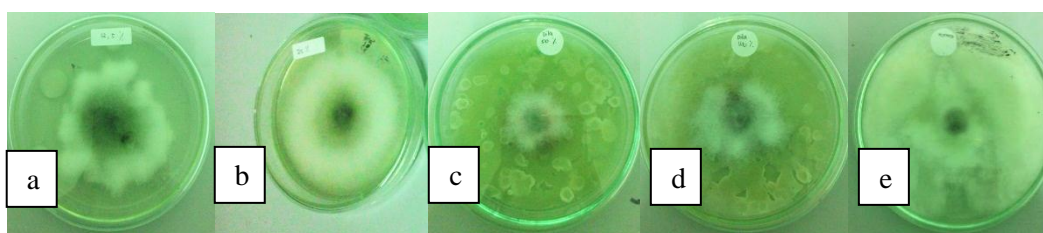
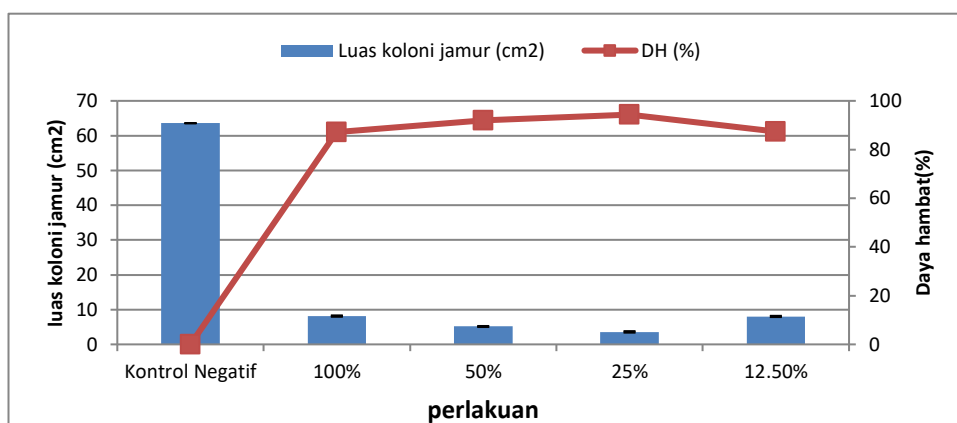
penghambatannya kurang efektif. Kemungkinan lain diduga AgNP pada dua konsentrasi tersebut telah teraglomerasi sehingga relatif menurunkan daya hambatnya. Untuk membuktikan hal ini, masih diperlukan pengamatan lain misalnya dengan SEM untuk melihat masing-masing ukuran AgNP pada berbagai konsentrasi tersebut.



Gambar 4 Contoh efek AgNP terhadap daya hambat bakteri E. coli (a)



Gambar 5 Contoh efek AgNP terhadap daya hambat bakteri Xoo (b)



Gambar 6 Efek AgNP terhadap pertumbuhan dan daya hambat jamur *C. gloeosporioides*. (a) konsentrasi AgNP 12,5 %; (b) 25 %; (c) 50 %; (d) 100 %; dan (e) kontrol negatif (tanpa AgNP)

KESIMPULAN

Terbentuknya AgNP pada larutan media diamati dari perubahan warna setelah inkubasi pada 37 °C selama 72 jam. Hasil pengukuran UV-Vis spektrofotometer terhadap larutan AgNP diperoleh panjang gelombang maksimum 425 nm. Ukuran partikel AgNP sebesar 252,1 nm dengan intensitas sebesar 98,90 %. Hasil *bioassay* AgNP terhadap *E. coli* diperoleh penghambatan tertinggi pada konsentrasi AgNP 50 % (DH= 96,15 %), diikuti AgNP 25 % (DH= 76,92 %), dan AgNP 12,5 % (DH= 53,84 %). *Bioassay* AgNP terhadap *Xoo* diperoleh daya penghambatan tertinggi pada AgNP 50 % (DH= 92,85 %) dan AgNP 25 %, 12,5 % (masing-masing DH= 85,71 %). Sementara efek AgNP terhadap *C.gloeosporioides* menunjukkan penghambatan yang tinggi pada AgNP 25 % (DH= 94,35 %), dan AgNP 50 % (DH= 91,9 %).

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan terima kasih kepada Sdr. Dilaika atas bantuan teknis di laboratorium dan teknisi Lab. Mikrobiologi BB Biogen yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, T., Shahid, M., Noman, M., Niazi, M.B.K., Mahmood, F., Manzoor, I., ... Chen, J. 2020. Silver nanoparticles synthesized by using *Bacillus cereus* SZT1 ameliorated the damage of bacterial leaf blight pathogen in rice. *Pathogens*, 9, 1–17. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030160>
- Bonde, S. 2011. A biogenic approach for green synthesis of silver nanoparticles using extract of *Foeniculum vulgare* and its activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nusantara Bioscience*, 3, 59–63. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n030201>
- Carbone, M., Donia, D.T., Sabbatella, G., Antiochia, R. 2016. Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University - Science*, 28, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.05.004>
- Chen, J., Li, S., Luo, J., Wang, R., Ding, W. 2016. Enhancement of the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles against Phytopathogenic Bacterium *Ralstonia solanacearum* by Stabilization. *Journal of*

- Nanomaterials, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7135852>
- Deljou, A., Goudarzi, S. 2016. Green extracellular synthesis of the silver nanoparticles using Thermophilic *Bacillus* Sp. AZ1 and its antimicrobial activity against several human pathogenetic bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, 14, 25–32. <https://doi.org/10.15171/ijb.1259>
- Dhuldhaj, U.P., Deshmukh, S.D., Gade, A.K., Yashpal, M., Rai, M.K. 2012. *Tagetes erecta* mediated phytosynthesis of silver nanoparticles: an eco-friendly approach. *Nusantara Bioscience*, 4, 109–112. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n040304>
- Ibrahim, E., Fouad, H., Zhang, M., Zhang, Y., Qiu, W., Yan, C., ... Chen, J. 2019. Biosynthesis of silver nanoparticles using endophytic bacteria and their role in inhibition of rice pathogenic bacteria and plant growth promotion. *RSC Advances*, 9, 29293–29299. <https://doi.org/10.1039/c9ra04246f>
- Ismail, O., Ocoy, M.L.P.M.A., Kunwar, S., Chen, T., Mingxu, Y., Weihong, T. 2013. Nanotechnology in Plant Disease Management: DNA-Directed Silver Nanoparticles on Graphene Oxide as an Antibacterial Against *Xanthomonas* Perforans. *ACS Nano*, 7. <https://doi.org/10.1021/nn4034794>. Nanotechnology
- Jain, D, Daima, H.K., Kachhwala, S., Kothari, S.L. 2009. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti microbial activities. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 4, 557–563.
- Jeevan, P., Ramya, K., Rena, A.E. 2012. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by culture supernatant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian Journal of Biotechnology*, 11, 72–76.
- Kareem, S.O., Familola, O.T., Oloyede, A.R., Dare, E.O. 2019. Microbial synthesis of silver nanoparticles using *alternaria alternata* and their characterization. *Applied Environmental Research*, 41, 1–7. <https://doi.org/10.35762/AER.2019.41.1.1>
- Kim, S., Kwak, J.S., Song, J.T., Seo, H.S. 2016. Long-term effect of niclosamide on inhibition of bacterial leaf blight in rice, *JPPR* 56. <https://doi.org/10.1515/jppr-2016-0051>
- Le, A.T., Le, T.T., Nguyen, V.Q., Tran, H.H., Dang, D.A., Tran, Q.H., Vu, D.L. 2012. Powerful colloidal silver nanoparticles for the prevention of gastrointestinal bacterial infections. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 3. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/4/045007>
- Lestari, T.P., Tahlib, F.A., Sukweenadhi, J., Kartini, K., Avanti, C. 2019. Physical Characteristic and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles from Green Synthesis Using Ethanol Extracts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Leaves. *Majalah Obat Tradisional*, 24, 22. <https://doi.org/10.22146/mot.37956>
- Loo, Y.Y., Chieng, B.W., Nishibuchi, M., Radu, S. 2012. Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia Sinensis*. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 4263–4267. <https://doi.org/10.2147/IJN.S33344>
- Mahdzideh, V., Safaie, N., Khelghatibana, F. 2015. Evaluation of antifungal activity of silver nanoparticles against some phytopathogenic fungi and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Crop Protection*, 4, 291–300.
- Masakke, Y., Sulfikar, Rasyid, M. 2015. Biosintesis Partikel-nano Perak Menggunakan Ekstrak Metanol Daun Manggis. *Jurnal Sainsmat*, IV, 28–41.
- Mukhopadhyay, S.S. 2014. Nanotechnology in agriculture: Prospects and constraints. *Nanotechnology, Science and Applications*, 7, 63–71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>
- Nameirakpam, N.D., Dheeban, S.P., S., S. 2012. Biomimetic Synthesis of Silver Nanoparticles From an Endophytic Fungus and Their Antimicrobial Efficacy. *International Journal of Biomedical and Advance Research*, 3, 409–415. <https://doi.org/10.7439/ijbar.v3i5.365>
- Owaid, M.N., Naeem, G.A., Muslim, R. F., Oleiwi, R.S. 2020. Synthesis, characterization and antitumor efficacy of silver nanoparticle from *Agaricus bisporus pileus*, basidiomycota. *Walailak Journal of*

- Science and Technology, 17, 75–87. <https://doi.org/10.48048/wjst.2020.5840>
- Pandit, R. 2015. Green synthesis of silver nanoparticles from seed extract of *Brassica nigra* and its antibacterial activity. *Nusantara Bioscience*, 7, 15–19. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n070103>
- Patil, B., Gb, J., Karegowda, C., Naik, S. 2017. Management of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* under field condition, 6, 244–246.
- Patil, D.R. 2015. Synthesis and Characterisation of Silver Nanoparticles using Fungi and its Anti-Microbial Activity. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 3, 146–152.
- Patra, J.K., Patra, A.P., Mahapatra, N.K., Thatoi, H.N., Das, S., Sahu, R.K. Swain, G.C. 2009. Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. *Malaysian Journal of Microbiology*, Vol 5(2) 2009, pp. 128-131
- Pulit, J., Banach, M., Szczygłowska, R., Bryk, M. 2013. Nanosilver against fungi. Silver nanoparticles as an effective biocidal factor. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4), 795–798. https://doi.org/10.18388/abp.2013_2060
- Sholkamy, E.N., Ahamd, M.S., Yasser, M.M., Eslam, N. 2019. Anti-microbiological activities of bio-synthesized silver Nanostars by *Saccharopolyspora hirsuta*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 195-200. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.02.020>
- Sundaram, R.M., Chatterjee, S., Oliva, R., Laha, G.S., Cruz, C.V. 2014. Update on Bacterial Blight of Rice: Fourth International Conference on Bacterial Blight, (August), 1–3. <https://doi.org/10.1186/s12284-014-0012-7>
- Wu, L., Wu, H., Chen, L., Yu, X., Borriss, R., Gao, X. 2015. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens. *Nature Publishing Group*, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep12975>