

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanoteknologi telah mengalami perkembangan luar biasa dalam beberapa dekade terakhir, ditandai dengan peningkatan 25 kali lipat jumlah produk yang mengandung atau memerlukan nanopartikel (Ningsih et al., 2017). Nanoteknologi merupakan cabang teknologi yang terdiri dari sintesis, rekayasa, dan pemanfaatan bahan yang berukuran nano yang dikenal dengan nanomaterial (Paramita dan Priyono, 2024). Perkembangan nanomaterial didukung oleh berbagai keunggulan seperti ukuran partikel yang kecil, sifat khas yang berbeda dibandingkan partikel berukuran lebih besar serta fleksibilitasnya untuk dikombinasikan dengan teknologi lain (Altammar, 2023). Salah satu bagian yang sangat penting dalam nanoteknologi adalah penggunaan nanopartikel. Secara umum, nanopartikel dapat diartikan sebagai suatu partikel dengan ukuran nanometer yaitu sekitar 1-100 nm (Zulaicha et al., 2021).

Pada tahun 2020, jumlah publikasi (lebih dari 400) dan paten (sekitar 200) mengenai penggunaan nanopartikel oksida logam sebagai alat terapi dan agen antibakteri ditemukan dua kali lebih tinggi dari tahun 2015. Nanopartikel oksida logam dapat digunakan sebagai biosensor untuk diagnosis dan terapi penyakit ontologis, dan untuk pengiriman obat (Gudkov et al., 2022). Salah satu nanopartikel oksida logam penting adalah nanopartikel aluminium oksida ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$) atau yang dikenal sebagai alumina termasuk dalam jenis keramik oksida. Aluminium oksida merupakan lapisan tipis yang terbentuk dari reaksi antara aluminium dan oksigen. Aluminium oksida memiliki banyak kegunaan dalam bidang elektronik, katalis dan termal (Zaki et al., 2012). $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ telah banyak digunakan dalam berbagai industri, makanan, perawatan, obat-obatan, biosensor, pengolahan air, deteksi polutan beresiko tinggi, perangkat sel surya, kapasitor, dan kristal fotonik (Bdewi et al., 2023). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gudkov et al., (2022) menyimpulkan $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ memiliki efek penghambatan terhadap bakteri gram positif dan gram negatif multiresisten, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

$\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ dapat disintesis dari berbagai sumber termasuk limbah aluminium foil. Seiring dengan peningkatan jumlah penduduk dan urbanisasi yang cepat, produksi sampah setiap tahun mengalami kenaikan yang signifikan. Diperkirakan bahwa pada tahun 2050, jumlah sampah padat kota akan mencapai $3,40 \times 10^9$ ton per tahun. Sampah ini mencakup aluminium yang sering ditemukan dalam bentuk kaleng logam, pintu, mesin mobil, bagian bodi, pembungkus makanan, dan barang-barang lainnya. Aluminium foil sebagai salah satu sumber utama aluminium sering digunakan sebagai bahan kemasan makanan dan keperluan lain baik dalam lingkungan rumah tangga maupun komersial, termasuk industri otomotif dan kedirgantaraan. Limbah aluminium foil juga banyak dihasilkan dari laboratorium terutama dari sisa penggunaan dalam proses percobaan, seperti

pembungkus reagen kimia, penutup wadah sampel, lapisan pelindung alat percobaan, maupun media penyangga dalam proses pemanasan. Material ini umumnya hanya digunakan sekali pakai sehingga berkontribusi pada penumpukan limbah logam yang sulit terurai. Pembuangan limbah aluminium sering dilakukan melalui pembakaran atau penimbunan, namun hal ini dapat menimbulkan efek termal yang tidak menguntungkan, pelepasan gas, dan berkontribusi pada emisi gas rumah kaca (Saleh et al., 2023). Oleh karena itu, limbah aluminium harus didaur ulang salah satunya dengan mensintesis aluminium foil menjadi Al_2O_3 -NP.

Sintesis nanopartikel pada umumnya dilakukan melalui metode *top-down* (fisika) dan *bottom-up* (kimia). Namun, kedua metode ini menggunakan bahan kimia berlebihan yang dapat mencemari lingkungan dan membutuhkan biaya tinggi. Oleh karena itu, metode alternatif berdasarkan konsep *green chemistry* dikembangkan untuk sintesis nanopartikel (Kasim et al., 2019). *Green chemistry* merupakan metode yang sudah dikenal luas untuk mensintesis nanopartikel dengan menggunakan organisme hidup seperti tanaman dan mikroorganisme. Nanopartikel yang dihasilkan dengan metode ini biokompatibel dan berguna untuk aplikasi biomedis. *Green chemistry* menggunakan ekstrak tanaman merupakan metode biologis yang ramah lingkungan, ekonomis, dan efektif untuk mensintesis nanopartikel oksida logam (Bdewi et al., 2023).

Peran bahan alam sebagai *capping agent* memberikan kontribusi dalam pengurangan bahan anorganik. Strategi ini mencakup penggunaan bahan ramah lingkungan, jenis polimer, dan bahan kimia yang tidak beracun. Reaksi dengan bahan dari alam biasanya berjalan lambat, namun nanopartikel yang dihasilkan terbukti memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan nanopartikel komersial, yaitu sebesar 40 nm (Rengga et al., 2017). Sintesis nanopartikel dengan menggunakan alga telah banyak dikembangkan. Alga mengandung lipid, mineral dan vitamin tertentu, polisakarida, protein, dan polifenol (Sari et al., 2017). Salah satu contoh bahan alam yang berpotensi sebagai *capping agent* dalam proses biosintesis adalah alga cokelat, yaitu *Sargassum* sp. yang mengandung 3-9% protein dari berat basah, 17 asam amino dari hidrolisis protein baik asam amino esensial maupun non esensial, serta mineral seperti kalsium, besi, tembaga, timbal, fosfor, seng, vitamin C, asam lemak, dan senyawa polifenol yang berpotensi dalam sintesis nanopartikel (Handayani et al., 2004). *Sargassum* sp. telah berhasil dimanfaatkan untuk biosintesis nanopartikel seperti Au, Ag, ZnO, dan Fe_3O_4 dalam berbagai bentuk dan ukuran (Kooi dan Buazar, 2018). Pemanfaatan bahan alam, seperti *Sargassum* sp. pada penelitian ini terbukti berhasil menjadi alternatif ramah lingkungan dan menghasilkan nanopartikel dengan ukuran kecil.

Beberapa penelitian mengenai sintesis Al_2O_3 -NP dengan menggunakan ekstrak tumbuhan telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian Saleh et al., (2023) mensintesis Al_2O_3 -NP yang memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Penelitian Manyasree et al., (2017) mensintesis Al_2O_3 -NP dengan partikel berukuran 35 nm yang menunjukkan sifat antibakteri pada *Escherichia coli*,

Proteus vulgaris, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus mutans*. Penelitian Thanaraj et al., (2024) juga mensintesis Al_2O_3 -NP dengan *Clerodendrum phlomidis* menghasilkan partikel berukuran 80-90 nm, dan menunjukkan kapasitas antibakteri yang signifikan terhadap *Staphylococcus Mutans*.

1.2 Teori

1.2.1 Nanopartikel Aluminium (Al-NP)

Aluminium adalah unsur yang sangat reaktif sehingga mudah teroksidasi. Aluminium tidak ditemukan di alam dalam bentuk unsur melainkan dalam bentuk senyawa baik dalam bentuk oksida alumina maupun silikon. Logam ini memiliki sifat unggul dibandingkan logam lain, diantaranya ringan, tahan korosi, tidak beracun, dan memiliki konduktivitas listrik yang baik. Selain itu, aluminium lebih ekonomis sebagai penghantar listrik karena massa jenisnya sekitar $2,7 \text{ gr/cm}^3$ pada suhu kamar (29°C) (Hakim dan Marsalin, 2016).

Nanopartikel aluminium oksida (Al_2O_3 -NP) merupakan salah satu jenis nanomaterial oksida logam yang memiliki struktur kristal dengan enam atom oksigen yang mengelilingi atom aluminium. Struktur ini membuatnya memiliki kekerasan tinggi dan stabilitas termal yang baik. Al_2O_3 -NP dapat diperoleh dari berbagai sumber, termasuk daur ulang limbah rumah tangga maupun limbah industri. Material ini memiliki luas permukaan yang besar, kekuatan mekanis yang tinggi, serta stabilitas kimia yang luar biasa terhadap suhu tinggi maupun lingkungan abrasif yang keras (Hassanpour et al., 2018).

1.2.2 Metode Green Sythesis

Metode *green synthesis* lebih efektif untuk menghasilkan nanopartikel, biaya rendah, membutuhkan waktu yang tidak lama, mudah, tingkat keberhasilan tinggi, dan karakterisasinya mudah (Gour dan Jain, 2019). Metode *green synthesis* memiliki biokompabilitas tinggi. Sintesis dapat dilakukan dengan menggunakan organisme seperti bakteri, antinobakteri, khamir, jamur, alga dan tanaman. Alga merupakan *photosite* akuatik eukariotik yang dapat memecah garam logam menjadi nanopartikel karena kandungan pigmen, protein, karbohidrat, lemak, asam nukleat, dan metabolit sekunder yang dikandungnya. Alga memberikan keuntungan pada metode *green synthesis* karena ketersediaan dan kegunaanya yang mudah (Nadaroglu et al., 2017).

Nanopartikel yang disintesis dengan metode *green synthesis* memainkan peran penting dalam remediasi lingkungan, aktivitas antibakteri, antijamur, dan penghantaran obat (Devi et al., 2021). Sebagai pendekatan *bottom-up*, metode *green synthesis* ini memiliki peran sebagai zat pengikat dan penstabil karena fitokimia hadir dalam ekstrak tumbuhan. Metode *green synthesis* menghasilkan nanoteknologi hijau yang dapat memulihkan lingkungan dan menghasilkan nanomaterial yang ramah lingkungan (Ikhiyola et al., 2024).

1.2.3 Aluminium Foil

Aluminium foil adalah bahan tipis yang terbuat dari logam aluminium dengan ketebalan $<0,15$ mm dan digunakan sebagai pengemas. Permukaan aluminium foil halus dan mudah dibersihkan, tidak menghasilkan residu beracun atau bereaksi dengan sebagian besar bahan kimia. Aluminium foil termasuk dalam kemasan logam tetapi tidak mengandung magnet sehingga memudahkan pemisahan aluminium foil dari kaleng saat didaur ulang. Aluminium foil terbagi atas dua, yaitu kemasan logam dan non logam. Aluminium foil yang termasuk dalam kemasan logam memiliki beberapa keunggulan yaitu, memiliki ketahanan yang baik terhadap uap air, gas, debu, kotoran, dan mikroorganisme, tingkat toksisitas yang rendah, tahan terhadap perubahan suhu dan memiliki permukaan yang ideal (A'yun et al., 2023).

1.2.4 Alga Cokelat (*Sargassum* sp.)

Sargassum sp. merupakan salah satu genus *Sargassum* yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. *Sargassum* sp. memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodine, dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri (Bachtiar dan Sianita, 2012). *Sargassum* sp. mengandung bahan alginat dan iodine yang dapat digunakan pada industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil. Selain itu, *Sargassum* sp. mengandung berbagai senyawa aktif seperti alkaloid, fenol, dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri dan anti jamur. Senyawa florotanin juga ditemukan pada *Sargassum* sp. yang berperan sebagai sumber antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengurangi dampak terjadinya oksidasi (Pakidi dan Suwoyo, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bachtiar (2012), menyatakan bahwa *Sargassum* sp. memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai bahan antibakteri terhadap beberapa jenis patogen. *Sargassum* sp. memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang memiliki aktivitas antibakteri. Komponen fenolik yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri dan antifungi yang terdapat pada alga cokelat jauh lebih tinggi dibandingkan dengan rumput laut merah dan hijau (Pringgenies et al., 2011).

1.3 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penulisan ini adalah:

1. bagaimana mensintesis Al_2O_3 -NP menggunakan limbah aluminium foil dengan ekstrak *Sargassum* sp?
2. bagaimana pengaruh variasi rasio prekursor logam dari limbah aluminium foil terhadap karakteristik fisik Al_2O_3 -NP yang dihasilkan?
3. bagaimana karakterisasi Al_2O_3 -NP yang disintesis dari limbah aluminium foil dengan ekstrak *Sargassum* sp?
4. bagaimana aktivitas antibakteri Al_2O_3 -NP yang disintesis dari limbah aluminium foil dengan ekstrak *Sargassum* sp. terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. mensintesis Al_2O_3 -NP menggunakan limbah aluminium foil dengan ekstrak *Sargassum* sp
2. mengetahui pengaruh variasi rasio prekursor logam dari limbah aluminium foil terhadap karakteristik fisik Al_2O_3 -NP yang dihasilkan
3. mengkarakterisasi Al_2O_3 -NP yang disintesis menggunakan limbah aluminium foil dengan ekstrak *Sargassum* sp
4. menguji aktivitas antibakteri Al_2O_3 -NP yang disintesis dengan menggunakan limbah aluminium foil dan *Sargassum* sp. terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat memberikan kontribusi terbaru terhadap dunia pengetahuan dan penelitian mengenai sintesis dan karakterisasi Al_2O_3 -NP menggunakan limbah aluminium foil dengan *Sargassum* sp. dan uji aktivitas antibakterinya, khususnya bakteri yang mudah resisten seperti *E. coli* dan *S. aureus*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sargassum* sp, akuades, limbah aluminium foil, HCl 6 M (Merck), Na₂CO₃ 1 M, FeCl₃, reagen Mayer, H₂SO₄ pekat (Merck), Pb(CH₃COO)₂ 10%, HCl 1% (Merck), padatan Kbr, *Muller Hinton Agar* (MHA), *plastic wrap*, *tissue roll*, kertas saring Whattman No. 42, dimetil sulfoksida (DMSO), bakteri (*E. coli* dan *S. aureus* dari kultur murni), dan ampicillin.

2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, wadah sampel, cawan petri, botol semprot, corong *buchner*, pompa vakum, *magnetic bar*, *magnetic stirrer* model 04802-02, *ultrasonic bath* S 40 H, neraca ohaus (*analytical plus*), *hot plate* (Taffware DLD-101B), *furnace*, oven, desikator, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2600), FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) (Shimadzu IRPrestige-21), XRD (X-Ray Diffraction) (Shimadzu XRD-7000), SAA (*Surface Area Analyzer*) (Micro 200).

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2025 hingga Mei 2025 di Laboratorium Kimia Fisika, Laboratorium Terpadu, Departemen Kimia, Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Analisis dan Pengolahan Bahan Galian, Fakultas Teknik, Universitas Hasanuddin.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Sampel

Sargassum sp. dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan akuades, kemudian dikeringkan pada suhu ruang, lalu dihaluskan. Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 10 g lalu ditambahkan 100 mL akuades dalam gelas kimia kemudian dipanaskan pada suhu 60°C. Larutan campuran didinginkan pada suhu ruang kemudian disaring menggunakan kertas saring Whattman No. 42 (Ikhiyia dan Nkele, 2024).

2.4.2 Uji Fitokimia

2.4.2.1 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak menggunakan metode pembentukan busa. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades secukupnya. Campuran ini dikocok secara kuat selama beberapa detik dan dibiarkan selama 30

detik untuk mengamati pembentukan busa. Hasil positif ditandai dengan adanya busa stabil (Syafitri, 2014).

2.4.2.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak *Sargassum* sp. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL larutan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 10%. Uji positif adanya flavonoid ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi kuning/endapan jingga (Bargah, 2015).

2.4.2.3 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid dalam ekstrak *Sargassum* sp. menggunakan metode presipitasi. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan HCl 1% secukupnya untuk menciptakan kondisi asam yang optimal bagi reaksi. Selanjutnya, beberapa tetes pereaksi Mayer ditambahkan kedalam campuran. Uji positif adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat kemerahan (Bargah, 2015).

2.4.3 Pembuatan Larutan Aluminium Klorida (AlCl_3)

Limbah aluminium foil terlebih dahulu dikumpulkan dan dibersihkan menggunakan akuades untuk menghilangkan kotoran atau bahan pengotor yang menempel. Setelah proses pencucian, aluminium foil dikeringkan dan dipotong menjadi bagian-bagian kecil. Potongan aluminium foil tersebut kemudian ditimbang sebanyak 3 gram dan dimasukkan secara bertahap ke dalam 100 mL larutan HCl 6 M sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Proses pengadukan dilakukan hingga reaksi selesai dan tidak terbentuk buih. Larutan hasil reaksi disaring untuk memisahkan kotoran yang tidak larut (Saleh et al., 2023).

2.4.4 Sintesis Al_2O_3 -NP

Sintesis Al_2O_3 -NP dilakukan dengan mencampurkan ekstrak *Sargassum* sp. dengan larutan AlCl_3 dalam tiga variasi rasio, yaitu 1:1, 1:2, dan 1:3. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian ditambahkan Na_2CO_3 1 M secara perlahan (tetes demi tetes) hingga terbentuk gel, sambil diaduk untuk menjaga homogenitas. Setelah pembentukan gel, campuran disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 42 untuk memisahkan endapan. Endapan yang diperoleh dicuci berulang kali dengan menggunakan akuades untuk menghilangkan sisa-sisa reagen, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C selama beberapa jam. Padatan kering selanjutnya dikalsinasi menggunakan *furnace* pada dua tahap, yaitu 250°C selama 2,5 jam dan 900°C selama 2 jam untuk memperoleh nanopartikel yang stabil (Ikhiyaya dan Nkele, 2024; Nduni et al., 2021).

2.5 Karakterisasi Al₂O₃-NP

2.5.1 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS

Karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-VIS dilakukan untuk mengkonfirmasi terbentuknya nanopartikel, sampel akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Analisis spektrofotometer UV-VIS dilakukan pada panjang gelombang 185-400 nm dengan menggunakan akuades sebagai larutan blanko (Sangor et al., 2021).

2.5.2 Karakterisasi Menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Karakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dilakukan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat dalam Al₂O₃-NP. Bubuk nanopartikel dicampur dengan Kalium Bromida (KBr) dengan perbandingan 1:100, kemudian dibentuk menjadi pelet dan diukur pada rentang panjang gelombang 4000-400 cm⁻¹ (Sangor et al., 2023).

2.5.3 Karakterisasi Menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD)

Karakterisasi menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD) dilakukan untuk analisis kristalinitas, ukuran, dan fase dari Al₂O₃-NP hasil biosintesis. Sampel dalam bentuk bubuk dimasukkan kedalam holder sampel. Sampel kemudian dianalisis pada suhu kamar dengan sumber mode radiasi monokromatik (Cu-K α (λ = 0.154 nm) dengan sudut 5-70° (Nduni et al., 2021).

2.5.4 Karakterisasi Menggunakan *Surface Area Analyzer* (SAA)

Karakterisasi menggunakan *Surface Area Analyzer* (SAA) dilakukan untuk mengukur luas permukaan spesifik dan distribusi ukuran pori Al₂O₃-NP yang dihasilkan dari sintesis. Tabung sampel ditimbang terlebih dahulu sebagai bobot kosong, kemudian dimasukkan sampel sebanyak 0,5 g. Proses degasing dilakukan dengan gas nitrogen pada suhu 200°C selama 2 jam. Analisis dalam kondisi suhu nitrogen cair serta dialirkan gas N₂ dan H₂ (Ningrum, 2018).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

2.6.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan metode sterilisasi kering (*Dry Sterilization Method*) dengan menggunakan oven. Alat dimasukkan kedalam oven, kemudian diatur pada suhu 180°C selama 7,5 menit dengan tujuan untuk membunuh atau menghilangkan agen yang menjadi penyebab kontaminasi pada kultur jaringan. Oven bekerja menggunakan proses konduksi panas dengan terlebih dahulu memanaskan permukaan bagian luar peralatan (Wulandari et al., 2021).

2.6.2 Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 15 g MHA dimasukkan kedalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 250 mL dan dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya

disterilkan didalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 2 atm dengan suhu 121°C. Setelah disterilkan, campuran dituang kedalam cawan petri sebanyak 15 mL dan didiamkan selama beberapa menit pada suhu kamar hingga padat (Nurhayati et al., 2020).

2.6.3 Persiapan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diremajakan terlebih dahulu dengan cara ditumbuhkan pada media *Muller Hinton Agar* miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat bakteri kemudian disuspensikan menggunakan NaCl fisiologi 0,9% dan diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm hingga diperoleh nilai transmittan 25% T (Nurhayati et al., 2020).

2.6.4 Persiapan Suspensi Larutan Uji

Sampel Al₂O₃-NP sebanyak 0.005 g dilarutkan dalam DMSO (Dimetil sulfokida) dengan konsentrasi 5%. DMSO dipilih karena kemampuannya melarutkan berbagai senyawa polar maupun nonpolar, serta tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mengganggu hasil uji (Megawati et al., 2025).

2.6.4 Uji Bioaktivitas Antibakteri

Pengujian sifat antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram (*blank disc*). Suspensi dari masing-masing bakteri uji yang telah disiapkan kemudian disebarkan merata pada permukaan media *Muller Hinton Agar* padat menggunakan kapas apus (*cotton swab*). Setelah itu, cakram kosong yang telah direndam selama sekitar 15 menit dalam masing-masing sampel, kontrol positif (ampisilin), dan kontrol negatif (DMSO) diletakkan secara aseptik di atas permukaan media menggunakan pinset steril. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong (Nurhayati et al., 2020).