

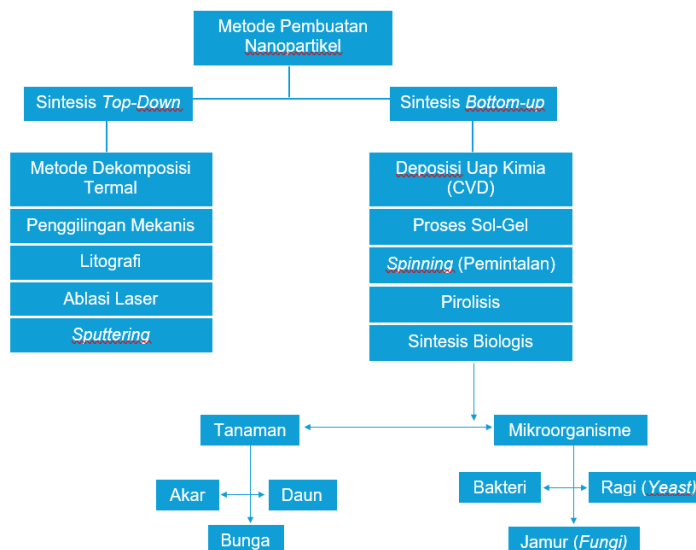
BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aluminium meliputi sekitar 8% kerak bumi dan merupakan unsur ketiga paling melimpah dengan karakteristik kepadatan yang rendah serta fungsinya sebagai material pelapis dan telah dimanfaatkan secara luas di berbagai sektor industri. Terdapat lebih 50 juta ton produksi aluminium pada tahun 2015 dan telah digunakan sebagai kemasan makanan, kosmetik, dan produk laboratorium (aluminium foil) yang dapat menghasilkan limbah (Ertl dan Goessler, 2018). Pembuangan limbah dari bahan-bahan tersebut seringkali dilakukan melalui insinerasi atau penimbunan sebagai cara pemulihan lingkungan. Pembuangan limbah yang mengandung aluminium di tempat pembuangan berpotensi menghasilkan efek termal yang merugikan, melepaskan gas, dan menghasilkan air rembesan sampah, yang dapat berkontribusi (sekitar 3%) pada emisi gas rumah kaca global. Oleh karena itu, limbah berbasis aluminium harus didaur ulang. Ada berbagai cara yang telah digunakan untuk menghilangkan limbah *aluminium foil* dari lingkungan, salah satunya digunakan untuk menyintesis nanopartikel (Saleh et al., 2023; Sangor dan Al-ghouti, 2023).

Nanopartikel dengan ukuran berkisar antara 1 hingga 100 nm, memiliki sifat fisik dan kimia yang unik. Perbandingan luas permukaan terhadap volume yang tinggi pada nanopartikel menyebabkan peningkatan reaktivitas, mobilitas, kelarutan, dan kekuatan, sehingga membuatnya sangat efektif dalam berbagai aplikasi. Dua metode sintesis utama (**Gambar 1**) yaitu *top-down* dan *bottom-up*, umumnya digunakan untuk mencapai nanomaterial dengan ukuran, bentuk, dan karakteristik tertentu (Khan et al., 2025).



Gambar 1. Metode Sintesis Nanopartikel (Ijaz et al., 2020)

Metode *top-down* memanfaatkan metode destruktif. Molekul yang lebih besar diuraikan menjadi molekul yang lebih kecil, dan molekul-molekul ini kemudian berubah

menjadi nanopartikel. *Grinding or processing (mechanical)*, *physical vapor deposition (PVD)*, dan pendekatan destruktif lainnya merupakan contoh dari metode *top-down*. Sebaliknya, metode *bottom-up* yang dikenal sebagai metode konstruktif melibatkan pembentukan nanopartikel dari bahan atau zat yang lebih sederhana. Metode ini meliputi *chemical vapor deposition (CVD)*, *sol-gel*, *spinning*, *pyrolysis*, dan sintesis biologi (Ijaz et al., 2020). Laju produksi yang lambat, limbah produk sampingan, konsumsi energi yang tinggi membuat sebagian besar metode fisik menjadi sangat mahal sehingga metode ini tidak dapat diterapkan untuk tujuan komersial yang menguntungkan. Penggunaan reagen dan bahan kimia berbahaya serta pembentukan produk sampingan pada metode kimia juga dapat membahayakan manusia dan lingkungan.

Sintesis nanopartikel dengan memanfaatkan biomassa menawarkan kemungkinan baru dengan menggunakan agen pereduksi dan stabilisasi alami sehingga metode ini menjadi metode alternatif yang ekonomis dan ramah lingkungan. (Patil dan Chandrasekaran, 2020). Dalam pendekatan *bottom-up*, berbagai gaya seperti interaksi *Van der Waals*, interaksi kapiler, tegangan permukaan, interaksi hidrofobik, dan efek ikatan hidrogen memediasi pembentukan nanopartikel. Dengan memanfaatkan metode ini (menggunakan capping agent yang berbeda) nanopartikel yang stabil dapat disintesis (Chugh et al., 2021).

Penggunaan biomassa dalam *green synthesis* menyediakan *capping agent* yang bersifat biodegradable, terdispersi dengan baik, larut dalam cairan biologis, biokompatibel, serta tidak beracun sehingga dapat dengan mudah digunakan. Berbeda dari reduksi kimia, metode ini menghindari penggunaan bahan kimia yang bersifat toksik (Javed et al., 2020). Metode ini melibatkan penggunaan bahan biologis sederhana hingga kompleks, seperti bakteri, jamur, *actinomycetes*, ragi, bahan tanaman, dan alga (Patil dan Chandrasekaran, 2020). Alga dianggap sebagai salah satu sumber daya hijau untuk sintesis berbagai nanopartikel. Berbagai kelas alga seperti alga merah (*Rhodophyceae*), alga biru-hijau (*Cyanophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), dan alga coklat (*Phaeophyceae*) telah banyak digunakan untuk sintesis nanopartikel. Ekstrak alga diharapkan dapat bertindak sebagai agen pereduksi dan *capping agent* dalam sintesis nanopartikel (Sidhu et al., 2022). Saat ini, penggunaan alga untuk *green synthesis* nanopartikel sudah banyak dilakukan. Pemanfaatan alga disebabkan oleh kemampuannya yang tinggi dalam menyerap logam dan mengurangi ion logam, biaya produksi yang relatif rendah, dan yang paling penting yaitu kemampuan untuk memproduksi nanopartikel dalam skala besar (Chugh et al., 2021). Alga merah menunjukkan aktivitas biologis yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis alga lainnya. Jenis alga ini mengandung senyawa bioaktif sebagai metabolit sekunder. Alga merah memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih melimpah dibandingkan dengan jenis alga lainnya (Lumbessy et al., 2020; Amaranggana & Wathoni, 2017).

Beberapa penelitian terkait sintesis nanopartikel aluminium oksida ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$) menggunakan metode *green synthesis*, diantaranya adalah penelitian dari Laskar dan Saha (2024) menyintesis nanopartikel aluminium oksida dengan menggunakan ekstrak biji tanaman *Carica papaya*, diperoleh ukuran partikel 52 nm dan aktivitas antibakteri menunjukkan zona hambat *E. coli* (19 mm) dan *S. aureus* (18 mm). Mahdi et al (2024) juga berhasil menyintesis $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ dengan ekstrak tanaman cengkih (*Syzygium aromaticum*), diperoleh rata-rata ukuran partikel 35 nm dan aktivitas antibakteri

menunjukkan zona hambat *E. coli* ($24 \pm 0,75$) dan *S. aureus* ($19 \pm 0,75$). Nagarajan et al (2023) juga berhasil menyintesis Al_2O_3 -NP dengan ekstrak tanaman *Citrus aurantium* L., diperoleh ukuran partikel 28 nm dan aktivitas antibakteri menunjukkan zona hambat *P. aeruginosa* [36 ± 2.12], *S. aureus* [35 ± 1.23], *S. epidermis* [27 ± 0.06], dan *K. pneumonia* [25 ± 1.65]. Meskipun demikian, sumber bahan alam yang digunakan dalam penelitian-penelitian tersebut masih terbatas pada tanaman darat, sementara potensi alga laut khususnya alga merah belum dimanfaatkan secara optimal untuk sintesis. Salah satu spesies dari alga merah adalah *Eucheuma cottonii* yang banyak mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, saponin, dan steroid sehingga spesies ini dapat dimanfaatkan sebagai *capping agent* alami dalam sintesis nanopartikel aluminium dan aluminium oksida (Santosa et al., 2024; Lumbessy et al., 2020).

Nanopartikel Al_2O_3 merupakan salah satu nanomaterial yang dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang karena karakteristik fisik dan kimianya yang unggul. Beberapa aplikasi dari Al_2O_3 -NP, seperti sebagai antimikroba (Laskar and Saha, 2024; Mahdi et al., 2024; Nagarajan et al., 2024), fotokatalitik (Alqarni, 2025; Medhat et al., 2024), adsorpsi zat warna (Ali et al., 2018; Sangor and Al-Gouti, 2023), adsorpsi logam berat (Golizadeh et al., 2023; Rabu et al., 2020), dan sebagai pendukung dalam sel ion aluminium (Nduni et al., 2021).

Berdasarkan penelusuran literatur, penelitian mengenai *Green Synthesis* dan Karakterisasi Nanopartikel Aluminium Oksida (Al_2O_3) dari Limbah *Aluminium foil* Menggunakan Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma Cottonii*) belum ada yang melakukan hingga saat ini. Variasi konsentrasi larutan AlCl_3 dilakukan untuk mengetahui rasio yang optimal dalam menghasilkan nanopartikel Al_2O_3 . Nanopartikel Al_2O_3 yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi dengan UV-Vis Spectrophotometer, X-Ray Diffractometer (XRD), Fourier Transform Infra Red (FTIR) Spectroscopy, Surface Area Analyzer (SAA) serta uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*) dilakukan pada nanopartikel dengan karakteristik yang sesuai.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. apakah nanopartikel Al_2O_3 dapat disintesis menggunakan ekstrak alga merah (*E. cottonii*) dan limbah *aluminium foil*?
2. bagaimana pengaruh variasi rasio prekursor logam yang berasal dari limbah *aluminium foil* terhadap karakteristik fisik hasil sintesis nanopartikel Al_2O_3 ?
3. bagaimana hasil karakterisasi nanopartikel Al_2O_3 yang disintesis menggunakan ekstrak alga merah (*E. cottonii*) dan limbah *aluminium foil* dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis, XRD, FTIR, dan SAA?
4. bagaimana hasil uji aktivitas antibakteri nanopartikel Al_2O_3 terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*)?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah melakukan sintesis nanopartikel Al_2O_3 melalui metode *green synthesis* dan melihat pengaruh variasi rasio prekursor logam dari limbah *aluminium foil* terhadap karakteristik fisik nanopartikel menggunakan ekstrak alga merah (*E. cottonii*) sebagai *capping agent* alami, serta menguji aktivitas antibakterinya.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melakukan sintesis nanopartikel Al_2O_3 menggunakan ekstrak alga merah (*E. cottonii*) dan limbah *aluminium foil*
2. mengkaji pengaruh variasi rasio prekursor logam yang berasal dari limbah *aluminium foil* terhadap karakteristik fisik hasil sintesis nanopartikel Al_2O_3
3. mengkarakterisasi hasil sintesis nanopartikel Al_2O_3 menggunakan ekstrak alga merah (*E. cottonii*) dan limbah *aluminium foil*
4. mengevaluasi aktivitas antibakteri hasil sintesis nanopartikel Al_2O_3 terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*)

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan kontribusi dalam pengembangan pengetahuan dan penelitian, melalui pemanfaatan limbah *aluminium foil* sebagai prekursor logam dalam sintesis nanopartikel Al_2O_3 melalui metode *green synthesis* dengan menggunakan ekstrak alga merah (*E. cottonii*) sebagai *capping agent* alami, mengkaji pengaruh variasi rasio prekursor logam terhadap karakteristik fisik nanopartikel melalui proses karakterisasi, serta menguji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri yang mudah resisten seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah (*Euchema cottonii*), aluminium foil, akuades, HCl (Merck), Na₂CO₃ (Merck), H₂SO₄ (Merck), FeCl₃ (Merck), reagen mayer, Pb(CH₃COO)₂, asetat anhidrat, KBr, Nitrogen, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), ampicilin, plastik wrap, *tissue roll*, dan kertas saring *Whatman* nomor 42.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas di laboratorium, *hot plate* (Taffware DLD-101B), lumpang porselen, neraca analitik (Ohaus Analytical Plus), botol semprot, *magnetic bar*, *magnetic stirrer* (Model 04802-02), sonikator (Elmasonic S40H), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2600), FTIR (Shimadzu IRPrestige-21), XRD (Shimadzu Maxima X-7000), dan SAA (Micro 200).

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Juli 2025. Sampel diambil di tempat budidaya alga C.V MBM. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Fisika Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar. Pengujian UV-Vis (*Ultraviolet Visible*) dan FT-IR (*Fourier Transform Infrared*) dilakukan di Laboratorium Terpadu Departemen Kimia, SAA (*Surface Area Analyzer*) dilakukan di Laboratorium Kimia Fisika dan Pengujian Aktivitas Antibakteri dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin; Pengujian XRD (*X-Ray Diffraction*) dilakukan di Laboratorium Analisis dan Pengolahan Bahan Galian, Departemen Teknik Pertambangan, Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi *Euchema cottonii*

Sampel *E. cottonii* dibersihkan terlebih dahulu melalui beberapa kali pencucian sehingga tidak ada lagi sisa-sisa kotoran yang berupa pasir, garam, dan kontaminan lainnya. Setelah itu, sampel dikeringkan selama beberapa jam dalam oven pada suhu 60°C hingga kering. Selanjutnya sampel dihaluskan untuk menghasilkan serbuk halus (Ikhiyaya dan Nkele, 2024; Agustina et al., 2024).

2.4.2 Ekstraksi *Euchema cottonii*

Ekstraksi dilakukan dengan mencampurkan sebanyak 10 gram serbuk halus *E. cottonii* ke dalam 100 mL akuades, menghasilkan perbandingan bahan terhadap pelarut sebesar 1:10 (Ikhiyaya dan Nkele, 2024). Campuran tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 50°C selama sekitar 12 menit. Setelah dipanaskan, campuran tersebut disaring

menggunakan corong Buchner yang dilengkapi dengan kertas saring Whatman No. 42. Proses penyaringan menghasilkan ekstrak berwarna kuning kecoklatan, yang kemudian disimpan pada suhu sekitar 4°C untuk menjaga kestabilannya (Sharma et al., 2019; Veronika et al., 2017).

2.4.3 Uji Fitokimia

Uji Steroid. Ekstrak *E. cottonii* ditambahkan dengan asetat anhidrat sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 1 mL secara perlahan. Ekstrak positif steroid apabila terjadi perubahan warna menjadi biru atau hijau (Ahmad et al., 2018).

Uji Alkaloid. Sebanyak 1 mL ekstrak *E. cottonii* ditambahkan dengan 3 tetes reagen mayer. Endapan berwarna putih atau putih kekuningan menandakan adanya kandungan alkaloid (Bargah, 2015).

Uji Flavonoid. Sebanyak 1 mL ekstrak *E. cottonii* ditambahkan dengan 1 mL larutan Pb(CH₃COO)₂ 10%. Adanya kandungan flavonoid ditandai dengan pembentukan endapan berwarna kuning (Dalming et al., 2022).

Uji Saponin. Ekstrak *E. cottonii* ditambahkan akuades perbandingan 1:1, kemudian dikocok selama 1 menit. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang dapat bertahan selama 30 detik (Mutamimah et al., 2022)

Uji Tanin. Sebanyak 1 ml ekstrak *E. cottonii* ditambahkan 2 mL larutan FeCl₃ 5%. Ekstrak positif apabila terjadi perubahan warna menjadi warna hijau, merah kecoklatan, biru atau hitam pekat (Prasetyo et al., 2023)

2.4.4 Pembuatan Larutan AlCl₃

Aluminium foil dicuci menggunakan akuades, dikeringkan, dan dipotong menjadi potongan-potongan kecil. Selanjutnya 3 g *aluminium foil* yang telah dipotong-potong dilarutkan dalam 100 mL larutan HCl 6 M menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruangan hingga busa menghilang. Larutan tersebut kemudian disaring untuk mendapatkan larutan aluminium klorida (AlCl₃) (Saleh et al., 2023).

2.4.5 Green Synthesis Nanopartikel Al₂O₃ (Al₂O₃-NP)

Sintesis nanopartikel dilakukan dengan mereaksikan ekstrak *E. cottonii* dengan larutan precursor AlCl₃. Proses pencampuran ini dilakukan dengan memvariasikan rasio volume ekstrak terhadap prekursor menjadi 1:1 dan 1:2. Sampel berturut-turut diberi nama EcAl-11 dan EcAl-12. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya larutan Na₂CO₃ 1 M ditambahkan setetes demi setetes hingga menghasilkan gel berwarna putih kekuningan. Gel ini kemudian dipisahkan melalui penyaringan menggunakan corong Buchner dengan kertas saring *Whatman* No. 42 hingga diperoleh endapan (Nduni et al., 2021). Endapan yang terbentuk dicuci beberapa kali menggunakan akuades untuk menghilangkan zat sisa. Setelah itu, endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C selama satu malam penuh (Gholizadeh et al., 2023). Serbuk yang didapatkan dikalsinasi dalam *muffle furnace* pada suhu 250 °C selama 2,5 jam dan

suhu 900 °C selama 2 jam. Serbuk akhir yang diperoleh ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$) kemudian dimurnikan dengan dicuci berulang kali menggunakan akuades, kemudian disimpan dalam botol vial pada suhu ruang (Ikhiyia dan Nkele, 2024).

2.4.6 Karakterisasi Nanopartikel Al_2O_3 ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$)

Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Karakterisasi menggunakan Spektrofotometer *Ultraviolet Visible* (UV-Vis) dilakukan untuk memvalidasi sintesis $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$. Reduksi ion Al^{3+} dan pembentukan $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ dikonfirmasi dengan mengamati puncak absorbansi spesifik pada spektrum (Ahmad et al., 2023). Sebanyak 0,1 g $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ didispersikan dalam 100 mL akuades dan dihomogenkan menggunakan sonikator selama 2 jam untuk menyiapkan larutan stok. Larutan standar dibuat dengan mengambil 9 mL larutan stok dan diencerkan menjadi 30 mL dengan akuades. Larutan standar kemudian diaduk selama 5 menit dan spektrum absorbansi UV-Vis dari $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$ dicatat pada rentang panjang gelombang tertentu (Shivanand et al., 2022).

Karakterisasi Menggunakan X-Ray Diffraction (XRD). Karakterisasi menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD) dilakukan untuk menganalisis fase, ukuran dan struktur kristal $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$. Sampel ditempatkan pada penahan sampel baja dan diratakan untuk memastikan paparan sinar-X yang total dan merata. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang (28 °C) menggunakan sumber radiasi monokromatik $\text{CuK}\alpha$ pada panjang gelombang $\lambda = 1,540598 \text{ \AA}$, pada sudut 2θ antara 5° hingga 70° dengan resolusi 0,02° dan waktu integrasi 60 detik. Fase kristalin diidentifikasi dengan membandingkan hasil yang diperoleh dengan referensi dari International Centre for Diffraction Data (ICDD). Ukuran partikel dihitung menggunakan Persamaan *Debye–Scherrer* (Saleh et al., 2023).

Karakterisasi Menggunakan Fourier Transform Infrared (FT-IR). Karakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) dilakukan untuk mengidentifikasi interaksi antar atom yang terdapat pada $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$. Proses pengujian diawali dengan pengeringan $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$. Sampel kering yang dihasilkan kemudian dibentuk menjadi *pellet* melalui pencampuran kalium bromida (KBr) dalam perbandingan 1:100. Pengukuran spektrum dilakukan pada rentang panjang gelombang 4000-340 cm^{-1} (Siddiqui et al., 2023).

Karakterisasi Menggunakan Surface Area Analyzer (SAA). Karakterisasi menggunakan *Surface Area Analyzer* (SAA) dilakukan untuk menentukan karakteristik luas permukaan, pola sebaran pori, serta isoterm adsorpsi suatu gas pada permukaan $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP}$. Sampel diperkirakan menggunakan teori *Brunauer–Emmett–Teller* (BET) yang diukur melalui isoterm adsorpsi dan desorpsi nitrogen cair pada suhu 77 K (−196 °C) dengan peralatan adsorpsi volume konstan. Sebelum analisis BET dilakukan, sampel menjalani proses *degassing* pada suhu 200 °C selama 3 jam untuk menghilangkan gas-gas yang menempel pada permukaan padatan (Osman et al., 2017; Gholizadeh et al., 2023).

2.4.7 Uji Antibakteri

Sterilisasi Alat dan Bahan. Seluruh peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan. Setelah itu, peralatan dan media kultur disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15-20 menit. Jarum ose dan disterilisasikan dengan cara dibakar diatas api langsung menggunakan spritus sedangkan cawan petri dan pipet tetes disterilkan menggunakan larutan etanol 96% (Kindangen et al., 2018).

Pembuatan Media MHA. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) digunakan sebagai media untuk uji aktivitas Antibakteri. Sebanyak 15 g MHA dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 250 mL akuades dan dipanaskan sampai mendidih. Media yang telah homogen disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL dan dibiarkan memadat pada suhu kamar (Maarisit et al., 2021).

Persiapan Suspensi Bakteri Uji. Isolat bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, yang yang diperoleh dari kultur murni. Masing-masing isolate diambil sebanyak 1-2 ose lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9% kemudian dihomogenkan hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 McFarland. Setelah itu, 0,5 mL suspensi bakteri dicampurkan dengan 15 mL media MHA, diratakan, dan dibiarkan memadat di dalam cawan (Kindangen et al., 2018).

Persiapan Sampel Uji. Nanopartikel Al_2O_3 perbandingan EcAl-11 dan EcAl-12 masing-masing ditimbang sebanyak 0,05 g, kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO dan disonikasi selama 30 menit. Sebagai pembanding, ampisilin ditimbang sebanyak 0,05 g dan dilarutkan dalam 1 mL akuades, yang berfungsi sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif.

Uji Aktivitas Antibakteri Al_2O_3 -NP. Aktivitas antibakteri Al_2O_3 -NP terhadap bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* dan Gram-positif *Staphylococcus aureus* diuji menggunakan metode difusi cakram (*disk diffusion*) pada media MHA. Metode ini berfungsi untuk mengevaluasi efektivitas Al_2O_3 -NP sebagai agen antibakteri, yang ditunjukkan melalui pengukuran zona hambatan yang terbentuk di sekitar cakram kertas (Maarisit et al., 2021)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan 4 cakram kertas (*paper disc*) berdiameter 6 mm. Cakram-cakram ini direndam dalam 100 μL nanopartikel Al_2O_3 -NP berkonsentrasi 5% (0,25 g dalam 5 mL akuades), kontrol positif (ampisilin 5%), dan kontrol negatif (DMSO) kemudian dibiarkan hingga larutan meresap ke dalam *disc*. Selanjutnya cakram-cakram tersebut diletakkan secara aseptis di permukaan media MHA dengan jarak yang cukup untuk mencegah tumpang tindih kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Efektivitas antibakteri diukur pasca-inkubasi dengan mengukur diameter zona hambat (zona inhibisi) menggunakan jangka sorong (Nurhayati et al., 2020).