

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki peluang yang besar untuk turut bersaing dalam pengembangan nanoteknologi. Melalui nanoteknologi, sifat-sifat yang dimiliki alam dapat diubah sesuai dengan keinginan guna memenuhi persaingan global. Sumber daya alam Indonesia yang melimpah dan variatif menjadi modal utama dalam pengembangan nanoteknologi saat ini. Hal inilah yang menjadi salah satu pendorong para ilmuwan untuk mengembangkan berbagai disiplin ilmu untuk diterapkan pada berbagai media pemenuhan sumber daya karena salah satu ilmu yang saat ini tengah berkembang pesat ialah nanosains dan nanoteknologi. Nanoteknologi telah diterapkan secara luas di berbagai sektor. Dalam bidang medis, partikel nano berfungsi dalam deteksi sel kanker dan penghantaran obat secara terarah. Di industri tekstil, nanopartikel perak digunakan untuk mengurangi bau pada kaus kaki, sementara di industri kosmetik teknologi ini mendukung inovasi produk. Di sektor pangan, nanoteknologi memungkinkan aplikasi zat gizi mikro dan senyawa bioaktif yang sebelumnya sulit digunakan karena rendahnya kelarutan serta ketidakstabilan sifat fisik dan kimianya selama proses produksi dan distribusi (Widjanarko, 2022; Ningrum et al., 2023).

Nanoteknologi pada umumnya didefinisikan sebagai desain, pengembangan dan penggunaan suatu material yang berukuran nano yaitu ukuran partikelnya antara 1-100 nm, untuk memperbaiki sifat fisiko-kimia seperti : sensitivitas optik, konduktivitas, reaktivitas, bentuk serta ukuran atau luas permukaan dan kemagnetannya menjadi lebih baik (Thangadurai et al., 2020; Hasan et al., 2015). Salah satu jenis nanopartikel yang paling banyak diteliti saat ini adalah nanopartikel logam karena memiliki beberapa keunggulan antara lain lebih stabil, biokompatibel, dan dapat diproduksi dalam skala besar (Prasetiowati et al., 2018; Idris dan Roy, 2023). Contoh logam yang dapat diteliti adalah mangan dioksida yang dikenal sebagai katalis pada berbagai reaksi kimia, mangan dioksida merupakan oksidator yang efektif karena memiliki oksigen yang lebih mudah dilepaskan pada proses oksidasi dibandingkan oksidasi logam lainnya. Sintesis partikel MnO_2 dengan ukuran nano dapat meningkatkan luas permukaan suatu material dengan memperkecil ukuran partikel sehingga kapasitas penyimpanan juga akan semakin tinggi. Proses sintesis nanopartikel mangan dioksida dapat dilakukan dengan menggunakan kalium permanganat (KMnO_4). Kalium permanganat telah digunakan sebagai zat pada aplikasi media dan sebagai elektron katoda, akseptor elektron dengan menghasilkan berbagai jenis oksida mangan nanomaterial (Rahayu et al., 2020).

Nanopartikel mangan dioksida merupakan material yang lebih baik dari pada ZnO , AgNP , dan Fe_3O_4 , karena sifat uniknya yang biokompatibel. MnO_2 menunjukkan sifat antimikroba dan antioksidan yang unggul melalui berbagai cara seperti ROS, merusak membran, dan meniru enzim. Nanopartikel Mangan dioksida menunjukkan kemampuannya membunuh bakteri dan reaksi fotokatalitik yang lebih baik, dengan toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan nanopartikel ZnO , Fe_3O_4 , CuO , NiO , dan Co_3O_4 (Sankarganesh et al., 2026). Mangan dioksida atau MnO_2 merupakan oksida mangan yang memiliki berbagai polimorfi struktur kristal, seperti β -, α -, δ -, dan γ - MnO_2 . Setiap material oksida mangan ini terdiri atas suatu struktur tunnel. β - MnO_2 (pyrolusite), α - MnO_2 (ramsdellite), γ - MnO_2 (nsutite) dan δ - MnO_2 (vernadite) memiliki

struktur tunnel (1x1), (1x2), (1x1) (1x2), dan (1x ∞) secara berturut-turut. Dengan struktur tunnel yang dimiliki oleh material oksida mangan ini, sehingga banyak digunakan sebagai selektif katalis, penukar ion, dan penukar molekul. Oksida mangan memiliki berbagai bentuk oksida, diantaranya: MnO₂, Mn₂O₃, Mn₃O₄, dan MnO (Saridewi et al., 2015).

Sintesis nanopartikel umumnya dilakukan menggunakan dua pendekatan yaitu *top-down* dan *bottom-up*. Sintesis melalui pendekatan *top-down* merupakan sintesis nanopartikel secara fisika yang dilakukan dengan cara memecah material besar menjadi material berukuran nanometer, sedangkan pendekatan *bottom-up*, sintesis dilakukan secara kimia dengan membentuk nanopartikel dari sejumlah material awal berupa atom menjadi nanopartikel yang melibatkan reaksi kimia (Wulandari dan Safaat, 2021). Meskipun sintesis nanopartikel menggunakan metode kimia sangat populer digunakan namun memiliki beberapa kelemahan seperti memerlukan peralatan yang canggih dan biaya yang tinggi pula (Kanchi dan Ahmed, 2018). Salah satu modifikasi pendekatan sintesis *bottom-up* yang saat ini banyak dikembangkan adalah metode *green synthesis* dengan meminimalkan penggunaan pelarut organik karena seluruhnya menggunakan air sebagai pelarut yang menurunkan risiko lingkungan dan biaya, serta mengaplikasikan bahan berupa ekstrak yang berasal dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme sebagai bioreduktor (Asmathunisha dan Kathiresan, 2013; Soni et al., 2018). Kandungan senyawa organik bahan alam yang dihasilkan oleh organisme tersebut diketahui memiliki kemampuan mereduksi ion logam dan menstabilkan nanopartikel (Mazhar et al., 2017; Lomeli-Marroquin et al., 2019). Penggunaan mikroorganisme dalam sintesis nanopartikel masih bersifat elaboratif dan membutuhkan waktu yang lama sehingga sintesis nanopartikel dengan metode sintesis hijau pada umumnya menggunakan ekstrak tumbuhan (Thangdurai et al., 2020).

Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan dalam sintesis nanopartikel adalah mengkudu. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) adalah tanaman yang tumbuh didataran rendah hingga pada ketinggian tanah 1.500 m di atas permukaan laut. Mengkudu mempunyai bagian-bagian diantaranya akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Akar mengkudu bermanfaat untuk mengobati kencing manis dan eksim, sedangkan kulit batang, daging buah bermanfaat untuk mengobati disentri, radang usus, batuk, pelancar kencing, limpa bengkak, difteri, lever, sakit perut, ludah berdarah, sariawan, ketombe, sembelit. Biji mengkudu bermanfaat untuk melembabkan kulit (Simatupang et al., 2017; Rohmah et al., 2021).

Taksonomi tanaman mengkudu dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Filum	: Angiospermae
Subfilum	: Dicotyledonae
Divisi	: Lignosae
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Morinda
Spesies	: <i>Morinda citrifolia</i> (Abnaz dan Levita, 2018)

Tumbuhan mengkudu dahulu kala digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman obat, masyarakat mempercayai daun mengkudu mempunyai sifat pengusir bala dan mempunyai nilai yang spesifik terhadap kesehatan masyarakat, sedangkan buah mengkudu banyak digunakan masyarakat sebagai penyamak dan pengusir roh-roh yang sering mengganggu kesehatan manusia. Namun dengan adanya penelitian-penelitian telah dibuktikan bahwa simplisia mengkudu ini dapat bermanfaat bagi berbagai macam

masalah kesehatan, baik buah atau daunnya dapat digunakan untuk pengobatan penyakit degeneratif yang terjadi di masyarakat (Tandi et al., 2023).

Daun mengkudu mengandung beberapa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpen, saponin, kumarin, antrakuinon, karotenoid, asam organik, dan gula pereduksi. Pada analisis fitokimia yang dilakukan oleh Nugroho (2022), ekstrak akuades dan etanol daun mengkudu positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Metabolit sekunder ini berhubungan dengan berbagai proses penyembuhan luka, seperti saponin digunakan sebagai antibakteri dan hemostatik, tanin dimanfaatkan sebagai astringensia dan analgetik, flavonoid sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Mekanisme kerja yang terkait dengan senyawa metabolit sekunder tanaman ini menjadikannya agen yang menjanjikan untuk dimanfaatkan dalam mengembangkan obat baru untuk memerangi masalah resistensi antimikroba yang terus berkembang dengan beragam kandungan metabolit sekundernya tersebut, daun mengkudu menunjukkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas diminuta*, dan *Pseudomonas fluorescens*. Pada penelitian Aslah (2019) melaporkan bahwa rata-rata zona hambat fraksi metanol dan fraksi etil asetat daun mengkudu dengan konsentrasi 30% dan 40% terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dikategorikan kuat, dan pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* ditunjukkan hanya fraksi metanol dengan konsentrasi 40% digolongkan kuat (Ferdinal dkk., 2025). Senyawa flavonoid dan fenol yang terdapat dalam daun dapat berfungsi sebagai agen pereduksi yang dapat mengubah ion mangan menjadi nanopartikel MnO_2 . Produk yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan alat SEM dan XRD untuk mengetahui ukuran dan struktur partikel (Sriantun et al., 2022).

Sintesis nanopartikel MnO_2 pada penelitian ini menggunakan larutan buffer asam untuk menjaga kestabilan pH larutan sehingga ion prekursor MnO_4^- dapat bereaksi secara konsisten. Jenis buffer asam yang digunakan buffer asetat, zat pada awalnya digolongkan berdasarkan sifat zat yang terlarut di dalam air sebagai asam atau basa. Suatu zat bersifat asam atau basa dapat diketahui dengan mencicipinya. Apabila memberikan rasa asam suatu zat akan dikatakan sebagai asam, sedangkan jika rasanya getir dan terasa licin suatu zat akan dikatakan sebagai basa. Berdasarkan kemampuan ionisasi dan konsentrasi ion, larutan asam dan basa dibagi dalam kelompok asam dan basa kuat, serta asam dan basa lemah. Nilai pH dapat memberikan informasi tentang kekuatan suatu asam atau basa. Pada molaritas yang sama, semakin kuat suatu asam semakin besar molaritas ion dalam larutan, dan itu berarti semakin kecil pH maka semakin kuat suatu asam. Larutan penyangga atau dikenal dengan larutan buffer merupakan larutan yang dapat mempertahankan pH tertentu terhadap usaha mengubah pH, seperti penambahan asam, basa, ataupun pengenceran. Jika suatu larutan penyangga ditambah sedikit asam kuat, basa kuat atau diencerkan, maka pH larutan penyangga tersebut relatif tidak akan berubah (Basuki, 2021). Larutan penyangga merupakan larutan yang terbuat dari asam atau basa lemah dan garamnya, dimana larutan tersebut dapat mempertahankan pH nya walaupun ditambahkan sedikit asam, basa maupun diencerkan dengan air. Asam asetat atau lebih dikenal sebagai asam cuka (CH_3COOH) adalah suatu senyawa berbentuk cairan, tak berwarna, berbau menyengat, memiliki rasa asam yang tajam dan larut didalam air, alkohol, gliserol, eter. Pada tekanan atmosferik, titik didihnya $118.1^\circ C$ (Syarifuddin et al., 2013).

Berdasarkan latar belakang, maka penelitian ini difokuskan untuk mengetahui bagaimana pengaruh dari penambahan buffer asam asetat dalam sintesis dan karakterisasi nanopartikel MnO_2 menggunakan ekstrak tanaman daun mengkudu serta untuk mengetahui bagaimana hasil dari uji aktivitasnya sebagai anti bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. bagaimana potensi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dalam sintesis nanopartikel MnO_2 dengan penambahan buffer asam
2. bagaimana karakteristik nanopartikel MnO_2 hasil reduksi dari KMnO_4 dengan ekstrak daun mengkudu
3. bagaimana hasil uji antibakteri nanopartikel MnO_2 yang disintesis menggunakan ekstrak daun mengkudu

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. menentukan potensi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dalam sintesis MnO_2 melalui penambahan buffer asam
2. menentukan karakteristik nanopartikel MnO_2 hasil reduksi dari KMnO_4 dengan ekstrak daun mengkudu
3. menentukan aktivitas antibakteri nanopartikel MnO_2 yang disintesis menggunakan ekstrak daun mengkudu

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan yakni untuk memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan buffer asam pada sintesis dan karakterisasi nanopartikel mangan dioksida (MnO_2) dengan bioreduktor ekstrak daun mengkudu serta bagaimana uji aktivitasnya sebagai bahan antibakteri.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel (daun mengkudu), KMnO_4 (Merck), asam asetat (Merck), natrium asetat (Merck), etanol (Merck), akuabides, FeCl_3 (Merck), NaOH (Merck), NaCl (Merck), *amoxicilin*, reagen Dragendorf, reagen Lieberman-Burchard, *Muller Hinton Agar* (Merck), pH universal, *tissue roll*, kertas label, dan kertas saring *Whatman* no. 42.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, neraca analitik *Ohaus Analytical Plus*, alat gelas yang umum digunakan di laboratorium, pH-meter, *magnetic bar*, *magnetik stirrer* model 04802-02, oven SPN 150 SFD, *hot plate Taffware* DLD-101B, tabung sentrifugasi, sentrifugasi, autoklaf, cawan petri, spektrofotomer UV-VIS (Shimadzu UV-2600), FTIR (*Fourier Transform Infrared*) Shimidzu IR Prestige 21, *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (JCM-7000), dan *Particle Size Analyzer* (PSA) (Horibo SZ-100).

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli – November 2025 di Laboratorium Kimia Fisika untuk melakukan preparasi sampel dan sintesis nanopartikel MnO_2 , Laboratorium Kimia Terpadu Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin untuk uji gugus fungsi FTIR dan PSA, Laboratorium Mikrostruktur Fakultas Teknik Universitas Muslim Indonesia untuk analisis SEM-EDX, Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin untuk melakukan uji antibakteri.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Sampel

Sampel daun mengkudu diambil di Lorong 5, Biring Romang -5.118306,119.503658, Kapasa, Kecamatan Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan, 90245 dicuci hingga bersih menggunakan akuades dan dikeringkan pada suhu ruang. Sampel kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk kering daun mengkudu ditimbang sebanyak 5 g ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 100 mL akuabides dan distirrer pada suhu 60°C selama 1 jam lalu didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring *Whatman* no. 42. Setelah itu, ekstrak air daun mengkudu yang diperoleh disimpan dilemari pendingin untuk digunakan lebih lanjut (Dessie et al, 2020).

2.4.2 Uji Fitokimia

Uji Alkaloid. Ekstrak daun mengkudu dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes reagen Dragendorff. Uji positif ditandai dengan pembentukan endapan merah kecoklatan (Erlidawati dan Zahrina 2023).

Uji Tanin. Ekstrak daun mengkudu dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak tersebut ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 10%. Uji positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna hitam kehijauan atau biru kehitaman pada larutan (Sulistyoningdyah dan Ramayani, 2017).

Uji Flavonoid. Ekstrak daun mengkudu dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes NaOH 10%. Uji positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi kuning kecoklatan (Kurnianto et al., 2023).

Uji Steroid. Ekstrak daun mengkudu dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 mL reagen Lieberman-Burchard. Uji positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau biru (Abriyani et al., 2021).

Uji Saponin. Ekstrak daun mengkudu dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak tersebut ditambahkan beberapa tetes akuades dan dikocok hingga terbentuk buih stabil (Sulistyoningdyah dan Ramayani, 2017).

Uji Terpenoid. Ekstrak daun mengkudu dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 mL reagen Lieberman-Burchard. Uji positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah ungu (Abriyani et al., 2021).

2.4.3 Pembuatan Larutan KMnO_4 1 mM

Padatan KMnO_4 ditimbang sebanyak 0,0395 g ke dalam gelas kimia 50 mL, kemudian dilarutkan dengan sedikit akuabides. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL, lalu dihipitkan hingga tanda batas dan dihomogenkan.

2.4.4 Pembuatan Larutan CH_3COOH 0,1 M

Asam asetat glasial dipipet sebanyak 0,572 mL ke dalam labu ukur 100 mL yang sebelumnya telah diisi akuades, kemudian dihipitkan dengan akuabides hingga tanda batas dan dihomogenkan.

2.4.5 Pembuatan CH_3COONa 0,1 M

Padatan natrium asetat ditimbang sebanyak 0,82 g ke dalam gelas kimia, kemudian dilarutkan dengan sedikit akuabides, selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuabides hingga tanda batas dan dihomogenkan.

2.4.6 Pembuatan Larutan Buffer Asetat 20 mL

pH 3. Larutan asam asetat 0,1 M dipipet sebanyak 19,65 mL ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan CH_3COONa sebanyak 0,35 mL, lalu pH diukur dengan menggunakan pH meter dengan menambahkan tetes demi tetes natrium asetat sampai diperoleh pH 3.

pH 4. Larutan asam asetat 0,1 M dipipet sebanyak 17,04 mL ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan CH_3COONa sebanyak 2,96 mL. lalu pH diukur dengan menggunakan pH meter dengan menambahkan tetes demi tetes natrium asetat sampai diperoleh pH 4.

pH 5. Larutan asam asetat 0,1 M dipipet sebanyak 7,31 mL ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan CH_3COONa sebanyak 12,69 mL. lalu pH diukur dengan menggunakan pH meter dengan menambahkan tetes demi tetes natrium asetat sampai diperoleh pH 5.

pH 6. Larutan asam asetat 0,1 M dipipet sebanyak 1,09 mL ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan CH_3COONa sebanyak 18,91 mL. lalu pH diukur dengan menggunakan pH meter dengan menambahkan tetes demi tetes natrium asetat sampai diperoleh pH 6.

2.4.7 Optimasi variasi pH

Larutan KMnO_4 dimasukkan ke dalam 4 erlenmeyer berbeda sebanyak 30 mL, kemudian masing-masing ditambahkan 1 mL larutan *buffer* pH 3, 4, 5, dan 6. Lalu sebanyak 1 mL ekstrak air daun mengkudu dimasukkan kedalam erlenmeyer. Campuran dihomogenkan yang selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

2.4.8 Sintesis Nanopartikel MnO_2

Larutan KMnO_4 sebanyak 30 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL dan 1 mL larutan *buffer* optimum (pH 6) kemudian ditambahkan 1 mL ekstrak daun mengkudu. Campuran dihomogenkan lalu disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Endapan yang dihasilkan dicuci menggunakan akuades dan etanol. Endapan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 90°C selama 4 jam. Nanopartikel MnO_2 dikalsinasi selama 2 jam pada suhu 300°C (Joshi et al, 2020). Endapan dikarakterisasi dengan FTIR, SEM dan PSA.

2.5 Uji Anti Bakteri

2.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih kemudian dikeringkan. Mulut tabung dan Erlenmeyer disumbat dengan kapas dan kain kasa steril. Alat yang terbuat dari gelas disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat yang tidak tahan terhadap suhu tinggi dan berskala disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemijaran diatas api bunsen hingga memijar (Widyanti dan Fatmawati, 2022).

2.5.2 Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Muller Hinton Agar (MHA) dimasukkan sebanyak 7,6 g ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 200 mL dan dipanaskan sambil diaduk hingga larut. Media MHA yang berada di dalam erlenmeyer disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Media MHA yang sudah steril dituang ke dalam tabung reaksi steril sampai seperempat tinggi tabung lalu dimiringkan dan dидiamkan hingga memadat (Rizki et al., 2023)

2.5.3 Persiapan Suspensi

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diremajakan dengan cara ditumbuhkan pada media Mueller Hinton Agar miring lalu diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C. Isolat bakteri kemudian disuspensikan menggunakan NaCl fisiolog 0,9% dan diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm hingga diperoleh nilai transmittan 25% T (Fathoni et al., 2021).

2.5.4 Uji Bioaktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri nanopartikel MnO_2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditetapkan berdasarkan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*blank disc*). Sebanyak 0,2 mL suspensi bakteri uji diinokulasikan ke dalam media MHA yang masih cair (suhu $\pm 45^\circ\text{C}$) kemudian dihomogenkan hingga merata. Campuran media dengan bakteri uji selanjutnya dituang ke dalam cawan petri sebanyak $\pm 15\text{mL}$ lalu dibiarkan hingga memadat. Sebanyak 5 *blank disc* dengan diameter 6 mm direndam ke dalam masing-masing 5 mL larutan nanopartikel MnO_2 1%, KMnO_4 1%, buffer asetat 1%, kontrol positif (*amoxicillin* 1%) dan kontrol negatif (akuades) selama ± 15 menit. *Blank disc* yang telah direndam diinokulasi di atas permukaan media MHA yang telah memadat secara aseptis dan diberi jarak agar tidak *overlapping*. Media MHA yang berisi bakteri dan *blank disc* diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Diameter daerah hambat antibakteri diukur menggunakan jangka sorong setelah inkubasi selesai (Kosasi et al., 2019; Fatimah et al., 2022).