Ngày 9 tháng 10 năm 1941, ít lâu trước khi Hoa Kỳ chính thức tham chiến vào Chiến tranh thế giới thứ hai, Tổng thống Franklin Roosevelt phê chuẩn một chương trình khẩn cấp phát triển bom nguyên tử.[85] Tháng 5 năm 1942, Chủ tịch Ủy ban Nghiên cứu Quốc phòng James Bryant Conant, người khi còn là giảng viên ở Harvard có dạy Oppenheimer, mời ông tới đảm nhận công việc tính toán neutron nhanh, một nhiệm vụ mà Oppenheimer nỗ lực hết sức làm. Ông nhận được biệt danh "Người điều phối Đứt gãy Nhanh", ám chỉ tới sự lan truyền của một phản ứng dây chuyền neutron nhanh trong một quả bom nguyên tử. Một trong số những hành động đầu tiên của ông là tổ chức một khóa giảng mùa hè về lý thuyết bom ở tòa nhà ông làm việc ở Berkeley. Một nhóm những nhà vật lý châu Âu cùng với sinh viên theo học ông—bao gồm trong số đó là Robert Serber, Emil Konopinski, Felix Bloch, Hans Bethe và Edward Teller—những người bận bịu tính toán những thứ cần thiết phải thực hiện, và thực hiện theo trình tự nào, để chế tạo quả bom.[86]

A group of men in shirtsleeves sitting on folding chairs.

Một nhóm các nhà vật lý tại một hội thảo chuyên đề ở Los Alamos năm 1946. Hàng trước từ trái sang phải: Norris Bradbury, John Manley, Enrico Fermi và J.M.B. Kellogg. Đằng sau Manley là Oppenheimer (mặc áo vét đeo cà vạt), và bên trái là Richard Feynman. Vị đại tá quân đội phía ngoài bên trái là Oliver Haywood. Ở hàng thứ ba giữa Haywood và Oppenheimer là Edward Teller.

Tháng 6 năm 1942, Lục quân Hoa Kỳ thiết lập Khu vực Công trình Manhattan để đảm trách phần việc liên quan tới dự án bom nguyên tử, bắt đầu với việc chuyển giao trách nhiệm từ Văn phòng Nghiên cứu và Phát triển sang cho quân đội.[87] Vào tháng 9, tướng Groves được bổ nhiệm làm chỉ huy chương trình được gọi là Dự án Manhattan.[88] Groves chọn Oppenheimer để lãnh đạo phòng thí nghiệm vũ khí bí mật của dự án, một lựa chọn khiến nhiều người ngạc nhiên, bởi Oppenheimer có tiếng là không gần gũi về mặt chính trị với nhánh quân đội bảo thủ, cũng không phải là một nhà lãnh đạo của một dự án lớn. Groves có phần quan ngại rằng Oppenheimer không có giải Nobel, do đó có thể không có đủ danh vọng uy tín lãnh đạo những nhà khoa học khác (nhiều trong số họ, nhất là những người chạy từ châu Âu sang, đều có giải Nobel).[89] Tuy nhiên, Groves ấn tượng với sự nắm rõ những khía cạnh thực tế trong việc thiết kế và xây dựng bom nguyên tử của Oppenheimer, cũng như hiểu biết uyên bác về nhiều lĩnh vực của ông. Là một kỹ sư thuộc quân đội, Groves biết rằng những tố chất đó là thiết yếu trong một lĩnh vực đa ngành sẽ liên quan không chỉ tới vật lý, mà cả hóa học, luyên kim, đạn dược, và kỹ thuật. Groves cũng thấy ở con người Oppenheimer điều mà người khác không thấy, đó là một "tham vọng choáng ngợp" mà Groves cho là sẽ cung cấp động lực cần thiết để thúc đẩy dự án đi tới thành công. Isidor Rabi xem sự bổ nhiệm này "thực sự là một nước đi thiên tài của tướng Groves, người thông thường không được thiên tài cho lắm".[90]

Oppenheimer và Groves quyết định rằng để đảm bảo an ninh và sự liền lạc, họ cần đặt phòng thí nghiệp tập trung, bí mật tại một địa điểm hẻo lánh. Trong khi đi tìm một vị trí như vậy cuối năm 1942, Oppenheimer bị thu hút tới New Mexico, ở một nơi không xa trang trại chăn nuôi của ông. Ngày 16 tháng 11 năm 1942, Oppenheimer, Groves và những người khác đi thăm một địa điểm có triển vọng. Oppenheimer lo rằng những rặng núi cao có thể khiến người của ông cảm thấy bức bối về không gian, trong khi nhóm kỹ sư quan ngại về khả năng xảy ra lụt. Sau đó ông bèn đề xuất và cổ vũ cho một địa điểm mà ông biết rõ: một núi phẳng gần Santa Fe, New Mexico, nơi có một trường nam sinh tư nhân gọi là Trường Trại chăn nuôi Los Alamos. Nhóm kỹ sư lo lắng về đường sá khó khăn và nguồn cấp nước, tuy nhiên về những yếu tố khác thì họ thấy rất lý tưởng.[91] Kết quả Phòng thí nghiệm Los Alamos được xây ở vị trí trường học, lấy luôn những nhà sở của trường đồng thời dựng một loạt các tòa nhà khác một cách khẩn trương. Tại đây Oppenheimer lập nên một nhóm những nhà vật lý hàng đầu của thời đại, mà ông gọi là "những ngôi sao sáng".[92]

Ban đầu Los Alamos được xem là một phòng thí nghiệm quân sự, và Oppenheimer cùng các nhà nghiên cứu khác được lệnh phiên chế vào Lục quân. Ông hăng hái đến nỗi ra lệnh đặt cho mình một bộ trang phục trung tá và tự nguyện đi khám sức khỏe "nhập ngũ", tuy nhiên trượt các bài kiểm tra. Các bác sĩ quân đội cho rằng ông bị thiếu cân, chỉ 128 pound (58 kg), xác định chứng ho kinh niên của ông là bệnh lao và lo ngại về chứng đau đuôi cột sống mãn tính của ông.[93] Kế hoạch phiên chế các nhà khoa học thành đơn vị quân đội cũng phải bãi bỏ khi Robert Bacher và Isidor Rabi tỏ ra bất bình. Conant, Groves, và Oppenheimer tìm ra thỏa hiệp theo đó phòng thí nghiệm làm việc về danh nghĩa dưới sự vận hành của Đại học California theo hợp đồng với Bộ Chiến tranh.[94] Oppenheimer ban đầu đã đánh giá thấp quá mức quy mô của dự án; Los Alamos lớn lên từ chỗ vài trăm người năm 1943 thành hơn 6000 người năm 1945.[93]

Oppenheimer ban đầu có khó khăn với việc tổ chức phân ra thành nhóm lớn, nhưng nhanh chóng học được nghệ thuật quản lý quy mô lớn sau khi ông quyết định dời đến ở trong đơn vị. Ông được người ta chú ý bởi khả năng nắm bắt mọi khía cạnh khoa học của dự án và những nỗ lực kiểm soát những mâu thuẫn về văn hóa không thể tránh khỏi giữa những nhà khoa học và quân đội. Ở vai trò người quản lý khoa học, ông là một nhân vật thần tượng của những nhà khoa học cộng sự, hầu như một biểu tượng của thứ mà họ đang việc vì. Victor Weisskopf diễn đạt điều này như sau:

Oppenheimer lãnh đạo những nghiên cứu này, cả lý thuyết và thực nghiệm, theo đúng nghĩa của những từ đó. Ở đây khả năng nắm bắt điểm chính của bất kỳ chủ đề nào nhanh một cách đáng sợ của ông là một nhân tố quyết định; ông có thể làm quen với những chi tiết cốt yếu của mọi phần công việc.

Ông không hề điều khiển từ phòng chỉ huy. Ông hiện diện ở mỗi bước quan trọng. ÔNg có mặt ở phòng thí nghiệm hoặc trong phòng hội thảo, nơi một hiệu ứng mới được đo đọc, khi một ý tưởng mới hình thành. Không phải là ông đưa ra quá nhiều ý tưởng hay gợi ý; mặc dù ông đôi khi có làm điều đó, mà ảnh hưởng chính của ông đến từ thứ khác. Chính sự hiện diện liên tục cường độ cao tạo ra một cảm giác tham gia trực tiếp ở tất cả chúng tôi; nó tạo ra một bầu không khí độc đáo đầy nhiệt tình cùng thử thách đã lan tỏa trong suốt khoàng thời gian đó.[95]

Trong năm 1943 nỗ lực phát triển của dự án hướng vào một vũ khí phân hạch dạng súng dùng plutonium được gọi là "Thin Man". Những nghiên cứu ban đầu về tính chất của plutonium sử dụng plutonium-239 sinh ra từ cyclotron, vốn hết sức tinh khiết nhưng chỉ có thể chế tạo ở những lượng rất nhỏ. Khi Los Alamos nhận những mẫu plutonium từ Lò phản ứng Than chì X-10 ở Oak Ridge, người ta nhận ra một vấn đề: plutonium từ lò phản ứng có nồng độ plutonium-240 cao hơn, khiến cho nó không dùng làm thiết bị dạng súng được.[96] Tháng 7 năm 1944, Oppenheimer bỏ thiết kế dạng súng để chuyển sang thiết bị nổ khép. Sử dụng những thấu kính nổ hóa học, một khối cầu dưới điểm tới hạn chứa vật liệu phân hạch có thể hội tụ thành một dạng nhỏ hơn và đặc hơn. Vật liệu chỉ cần dịch chuyển một khoảng cách rất ngắn, do đó tốn ít thời gian hơn nhiều để đạt khối lượng tới hạn.[97] Tháng 8 năm 1944 Oppenheimer ban hành một cuộc tái tổ chức rộng khắp ở Los Alamos để hướng vào phương án nổ khép.[98] Ông tập trung nỗ lực phát triển thiết bị dạng súng vốn đơn giản hơn và chỉ phải làm việc với uranium-235, vào một nhóm duy nhất, và thiết bị này trở thành Little Boy tháng 2 năm 1945.[99] Sau một nỗ lực nghiên cứu khổng lồ, thiết kế phức tạp hơn sử dụng phương án nổ kép, được gọi là "thiết bị Christy" theo tên Robert Christy, một sinh viên của Oppenheimer,[100] được chính thức hoàn thành và phê duyệt trong một cuộc họp tại văn phong Oppenheimer ngày 28 tháng 2 năm 1945.[101]

Tháng 5 năm 1945 Ủy ban Lâm thời được thành lập, đứng đầu bởi Bộ trưởng Chiến tranh H.L. Stimson, để cố vấn và tường trình cho Tổng thống về chính sách thời chiến và hậu chiến về việc sử dụng năng lượng hạt nhân. Ủy ban Lâm thời tạo nên một hội đồng khoa học bao gồm Compton, Fermi, Lawrence và Oppenheimer để cố vấn họ về các vấn đề khoa học. Trong bài thuyết trình trước Ủy ban Lâm thời, hội đồng khoa học đã đề xuất những ý kiến liên quan không những đến tác động vật lý của bom nguyên tử, mà cả ảnh hưởng quân sự và chính trị có thể có của nó.[102] Điều này bao gồm ý kiến về những vấn đề nhạy cảm như liệu Liên Xô nên được biết trước về sự sử dụng vũ khí nguyên tử chống lại Nhật Bản hay không.[103]

Nỗ lực của các nhà khoa học ở Los Alamos được hiện thực hóa trong vụ thử hạt nhân đầu tiên gần Alamogordo vào ngày 16 tháng 7 năm 1945, một nơi Oppenheimer đặt cho mật danh "Trinity" vào giữa năm 1944. Về sau ông nói đã lấy tên này từ một bài trong tập Thánh Ca của John Donne. Theo nhà sử học Gregg Herken, cách đặt tên này có thể ám chỉ tới Jean Tatlock, người vừa tự vẫn ít tháng trước đó và là người trong những năm 1930 đã giới thiệu tác phẩm của Donne cho Oppenheimer.[104] Oppenheimer về sau nhắc lại rằng khi chứng kiến vụ nổ, ông có liên tưởng tới một dòng thơ từ thánh kinh Hindu Bhagavad Gita (XI,12):

Nếu ánh sáng của ngàn thái dương bùng lên một lúc trên bầu trời, nó sẽ giống như sự huy hoàng của đấng vĩ đại ...[105][106]

Về sau ông cũng nhắc đến một khổ thơ khác, thường được trích dẫn nhiều hơn: "kālo'smi lokakṣayakṛtpravṛddho lokānsamāhartumiha pravṛttaḥ" (XI,32),[107] mà ông dịch sang tiếng Anh thành "I am become Death, the destroyer of worlds" (tạm dịch: "Và ta trở thành Tử thần, kẻ hủy diệt hoàn vũ")[2][chú thích 2] Năm 1965, trong một buổi truyền hình, ông có nhắc lại câu thơ trên, đồng thời thêm rằng: "Chúng tôi biết thế giới sẽ không còn như cũ nữa. Vài người cười, vài người khóc. Hầu hết mọi người im lặng.."..[108] Theo em trai ông, vào lúc đó Oppenheimer đơn giản chỉ thốt lên "Thành công rồi". Chuẩn tướng Thomas Farrelll, người có mặt ở cùng boong-ke chỉ huy với Oppenheimer, viết lại rằng ông nhận thấy Oppenheimer nín hơi, mặt trở nên cực kỳ căng thẳng vào những giây cuối cùng, và sau khi quầng lửa bừng lên mặt ông giãn ra một vẻ khuây khỏa lớn lao.[111]

Isidor Rabi ghi nhận vẻ hân hoan chiến thắng khó ưa của Oppenheimer: "Tôi sẽ không bao giờ quên được lối đi của ông ta; tôi sẽ không bao giờ quên được cách ông ta bước ra khỏi xe ô tô... ông ta bước đi như thể trong High Noon... kiểu đi khệnh khạng như thế đó. Ông đã thành công".[112] Tại một phiên họp toàn thể tại Los Alamos vài ngày 6 tháng 8 (đêm quả bom nguyên tử thả xuống Hiroshima), Oppenheimer bước lên sân khấu xiết hai tay mình lại "như thể một tay đấm quyền Anh được giải" trong khi đám đông reo mừng. Ông phát biểu nói lấy làm tiếc rằng quả bom đã không kịp để sử dụng chống lại Đức Quốc xã.[113]

Tuy nhiên, ông và nhiều thành viên dự án khác đã cảm thấy rất buồn về vụ ném bom Nagasaki sau đó 3 ngày, bởi họ cảm thấy quả bom thứ hai là không cần thiết từ quan điểm quân sự.[114] Ông đi tới Washington ngày 17 tháng 8 để đưa tận tay một lá thư tới Bộ trưởng Chiến tranh Henry L. Stimson bày tỏ sự bất mãn của ông cũng như ước vọng cấm vũ khí hạt nhân.[115] Tháng 10 năm 1945 Oppenheimer được phép gặp gỡ Tổng thống Harry Truman. Buổi gặp diễn ra tệ hại, sau khi Oppenheimer nói rằng ông cảm thấy "bàn tay tôi vấy máu". Nhận xét đó làm Truman nổi giận và chấm dứt cuộc gặp. Sau đó Truman nói với Thứ trưởng Ngoại giao Dean Acheson, "Tôi không muốn nhìn thấy thằng chó đẻ đó (nguyên văn: son-of-a-bitch) trong văn phòng này thêm một lần nào nữa".[116] Tuy vậy, vì thành tích lãnh đạo ở Los Alamos, ông nhận được Huân chương Công trạng (danh dự dân sự cao nhất ở Hoa Kỳ) từ Truman năm 1946.[117] Sau vụ ném bom nguyên tử tại Hiroshima và Nagasaki, dự án Manhattan bước khỏi màn bí mật; Oppenheimer trở thành một người phát ngôn quốc gia về khoa học, biểu tượng của một loại quyền lực kỹ trị mới.[82] Ông đột nhiên trở thành người có danh vọng được công chúng biết tới, và tên ông xuất hiện trên trang bìa các tạp chí như Life và Time.[118][119] Vật lý hạt nhân trở thành một thế lực hùng mạnh khi tất cả các nước trên thế giới bắt đầu nhận ra sức mạnh chính trị và chiến lược đi kèm với vũ khí hạt nhân. Như nhiều nhà khoa học cùng thời, ông nghĩ rằng an ninh hạt nhân chỉ có thể đến từ một tổ chức đa quốc gia như Liên Hợp quốc (vừa mới thành lập), để ban hành một chương trình ngăn chặn chạy đua vũ trang hạt nhân.[120]