III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilaksanakan pada 15 Juni – 15 Juli 2013 di Laboratorium Budidaya Perikanan Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Peralatan dan bahan yang digunakan dalam penelitian

No.	Nama Peralatan/Bahan	Fungsi Alat	Jumlah
PERALATAN			
1.	Akuarium 10 x 10 x 15 cm	▪ Wadah uji untuk pemeliharaan <i>Daphnia</i> sp.	12 Buah
2.	Selang dan Batu Aerasi	▪ Meningkatkan O ₂ terlarut dalam media pemeliharaan	12 Buah
3.	Mikroskop Binokuler	▪ Untuk mengamati rasio jantan anakan <i>Daphnia</i> sp.	1 Unit
4.	Gelas Objek	▪ Meletakkan <i>Daphnia</i> untuk diamati di bawah mikroskop	20 Buah
5.	Pipet Tetes	▪ Untuk pengambilan sampel <i>Daphnia</i> sp.	5 Buah
6.	Termometer	▪ Mengukur suhu pada media pemeliharaan <i>Daphnia</i> sp.	1 Buah
7.	pH Meter	▪ Mengukur pH pada media pemeliharaan <i>Daphnia</i> sp.	1 Buah
8.	Gelas Ukur	▪ Mengukur jumlah larutan yang dibutuhkan	1 Buah
9.	Mikro Pipet (100-1000 µl)	▪ Melakukan pengenceran larutan bahan uji	1 Buah

No.	Nama Peralatan/Bahan	Fungsi Alat	Jumlah
BAHAN			
1.	<i>Daphnia</i> sp.	▪ Hewan uji yang digunakan dalam penelitian	500 Ekor
2.	Herbisida Ally 20 WDG	▪ Bahan untuk memaparkan <i>Daphnia</i> sp. ▪ Merupakan herbisida dengan merk dagang yang umum digunakan oleh petani	10 Gram
3.	Akuades	▪ Untuk mengencerkan Herbisida sebagai larutan perlakuan	5 Liter
4.	Air Tawar (PDAM)	▪ Sebagai media pemeliharaan <i>Daphnia</i> sp	15 Liter
5.	Susu Bubuk	▪ Sebagai pakan <i>Daphnia</i> sp. saat pemeliharaan	100 Gram

3.3 Desain Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu dengan mengacu pada Hanafiah (2008) dengan persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + E_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Pengaruh perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

μ : Rataan Umum

τ_i : Pengaruh Konsentrasi pestisida ke-i

E_{ij} : Galat Percobaan

Adapun pada penelitian ini dilakukan 4 perlakuan dengan 1 kontrol dan diulang sebanyak 3 kali. Adapun rinciannya adalah sebagai berikut:

Perlakuan K : konsentrasi metil metsulfuron 0 ppm (kontrol)

Perlakuan A : konsentrasi metil metsulfuron 0,01 ppm

Perlakuan B : konsentrasi metil metsulfuron 0,1 ppm

Perlakuan C : konsentrasi metil metsulfuron 1 ppm

Perlakuan D : konsentrasi metil metsulfuron 10 ppm

Jika konsentrasi tersebut tidak diperoleh ambang atas maka uji ambang dilanjutkan dengan menggunakan selang konsentrasi metil metsulfuron sebagai berikut:

Perlakuan A : konsentrasi metil metsulfuron 100 ppm

Perlakuan B : konsentrasi metil metsulfuron 400 ppm

Perlakuan C : konsentrasi metil metsulfuron 700 ppm

Perlakuan D : konsentrasi metil metsulfuron 1000 ppm

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Wadah Pemeliharaan

Sebelum kegiatan penelitian dimulai, wadah pengujian yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dengan air. Wadah yang digunakan adalah toples dengan volume 1 liter.

3.4.2 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan ini adalah *Daphnia* sp. betina dewasa dengan umur sekitar 4 hari (D4) yang didapat dari pedagang pakan alami ikan di Pasar Bandar Lampung.

3.4.3 Media Uji

Media uji yang digunakan adalah air tawar yang diaerasi terlebih dahulu selama tiga hari untuk menjaga kualitas air dalam kondisi optimal. Selanjutnya dilakukan pengukuran kualitas air yang optimum untuk pertumbuhan *Daphnia* sp.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Larutan Stok

Pada uji penentuan selang konsentrasi, terlebih dahulu dilakukan pembuatan larutan stok 1000 ppm. Karena herbisida yang digunakan dalam penelitian ini mengandung bahan aktif metil metsulfuron sebesar 20 % maka dengan mengacu Astria (2013), perhitungan pembuatan larutan stok dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 1 \text{ gram bahan} &= X\% \text{ kandungan} \\
 1 \text{ gram kandungan} &= \frac{1 \text{ gram bahan}}{X\% \text{ kandungan}} \\
 &= \frac{1 \text{ gram}}{20\%} \\
 &= \frac{1 \text{ gram}}{0,2} \\
 &= 5 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka 5 gram bahan herbisida dengan bahan aktif metil metsulfuron dilarutkan di dalam 1 liter akuades/air untuk dijadikan sebagai larutan stok dengan konsentrasi sebesar 1000 ppm.

3.5.2 Uji Penentuan Selang Konsentrasi

Uji penentuan selang konsentrasi bertujuan untuk memperkirakan dosis metil metsulfuron yang menyebabkan mortalitas 100% serta mengetahui ambang atas dan ambang bawah penggunaannya. Lama perlakuan 2 hari (48 jam) dengan menggunakan deret konsentrasi 0; 0,1; 1; 10; 100; 1000ppm. Jumlah *Daphnia* uji pada setiap wadah adalah 50 ekor dalam 1 liter. Selama uji berlangsung dilakukan pengamatan dan pencatatan mortalitas yaitu pada awal pengujian (0 jam), selama pengujian (24 jam) dan pada akhir pengujian (48 jam).

Berdasarkan pada hasil uji penentuan selang konsentrasi tersebut dapat ditentukan konsentrasi herbisida dengan bahan aktif metil metsulfuron untuk digunakan pada uji definitif yaitu menggunakan rumus di bawah ini dengan mengacu pada (Finney, 1971). Rumus untuk menentukan deret konsentrasi perlakuan adalah sebagai berikut:

$$\text{Log } \frac{N}{n} = k \left(\text{Log } \frac{a}{n} \right)$$

$$\text{Perhitungan Konsentrasi : } \frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} = \frac{N}{e}$$

Keterangan :

N : konsentrasi ambang atas

n : konsentrasi ambang bawah

a : konsentrasi terkecil dalam deret konsentrasi

k : jumlah konsentrasi yang diujikan (a,b,c,d,e)

3.5.3 Uji Definitif (Toksitas Akut)

Tujuan dilakukannya uji definitif adalah untuk menentukan konsentrasi bahan uji yang menghasilkan efek merugikan terhadap suatu organisme uji dalam selang waktu pemaparan yang pendek di bawah kondisi terkontrol. Langkah awal yang dilakukan pada uji definitif adalah membagi *Daphnia* uji pada wadah sebanyak 50 ekor pada setiap perlakuan. *Daphnia* uji tersebut diberi perlakuan berupa pemaparan metil metsulfuron dengan 4 konsentrasi berbeda yaitu 0; 20; 40; 80 ppm.

Hubungan nilai logaritma konsentrasi uji dengan persentasi mortalitas (dalam probit), merupakan fungsi linier : $Y = a + bX$. Nilai LC_{50-48} jam diperoleh anti log m. Nilai m merupakan nilai X pada saat kematian sebesar 50% sehingga fungsi liniernya adalah $5 = a + bX$. Untuk menentukan nilai a maupun b digunakan persamaan dengan mengacu pada Finney (1971) sebagai berikut:

$$b = \frac{\sum XY - 1/n (\sum X) (\sum Y)}{\sum X^2 - 1/n (\sum X)^2}$$

$$a = 1/n (\sum Y - b \sum X)$$

$$m = \frac{5 - a}{b}$$

LC_{50-48} Jam = anti log m

Keterangan :

Y = Nilai Probit Mortalitas Hewan Uji

X = Logaritma Konsentrasi Uji

a = Konstanta

b = Slope

m = Nilai X pada Y = 5 (Nilai Probit 50% Mortalitas Hewan Uji)

3.5.4 Uji pengaruh metil metsulfuron

Setelah didapatkan LC₅₀-48 jam selanjutnya dilakukan cara yang sama dengan uji pendahuluan namun dengan variasi konsentrasi yang lebih sempit dari hasil uji pendahuluan. Kemudian dilakukan pengamatan pada hari kelima dengan mengambil anakan *Daphnia* sp. sebanyak 30% dari populasi anakan *Daphnia* sp. pada setiap perlakuan, selanjutnya dilakukan identifikasi dan penghitungan jumlah anakan jantan. Zairin(2002) menyatakan, persentase jenis kelamin dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persentase Jantan} = \frac{\text{Jumlah Individu Jantan}}{\text{Jumlah Total}} \times 100 (\%)$$

3.5.5 Uji Parameter Kualitas Air

Parameter kualitas air sangat penting karena sebagai pendukung dalam penelitian ini. Adapun pengamatan kualitas air yang dilakukan dalam penelitian ini berupa oksigen terlarut (DO), suhu dan pH.

3.6 Analisis Data

Adapun analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi tiga pendekatan yaitu sebagai berikut :

1. Mengacu pada Hanafiah (2008) dengan menggunakan analisis ragam uji F (ANOVA) pada selang kepercayaan 95 % yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan berupa beberapa konsentrasi metil metsulfuron yang berbeda terhadap parameter pengamatan yaitu persentase rasio jenis kelamin anakan *Daphnia* sp. yang dihasilkan selama penelitian berlangsung. Namun jika hasil uji antar perlakuan berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT)
2. Pendekatan selanjutnya yaitu dengan menggunakan analisis korelasi yang dilakukan untuk mengetahui hubungan antara bahan uji yang digunakan berupa konsentrasi senyawa aktif metil metsulfuron terhadap hewan uji berupa *Daphnia* sp. dengan melihat persentase rasio jenis kelamin jantan anakan *Daphnia* sp. yang dihasilkan. Analisis korelasi ini dilakukan dengan mengacu pada Walpole (1991).
3. Selain menggunakan analisis uji F (ANOVA) dan analisis korelasi, dalam penelitian ini dilakukan pula analisis secara deskriptif untuk memberikan gambaran terkait data yang disajikan berdasarkan hasil penelitian. Gambaran

tersebut dapat dijadikan sebagai sumber untuk mengetahui dan menganalisis hasil data yang diperoleh dari penelitian ini.