

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian akan dilaksanakan pada Februari 2016 – Juli 2017. Uji toksisitas akut dan sub akut *Bacillus thuringiensis* D-142 bertempat di *Green House*, Laboratorium Ekologi dan Diversitas Hewan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan ulangan 3 kali. Kelompok perlakuan jenis hewan uji yakni *Lymnaea rubiginosa* juvenil dan dewasa. Konsentrasi larutan MOSNON™ yakni 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm masing-masing dengan 3 kali ulangan.

3.3 Koleksi dan Aklimatisasi Hewan uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji siput air (*Lymnaea rubiginosa*) sehat yang dicirikan dengan bentuk cangkang normal berpilin, permukaan cangkang halus dan licin, warna cangkang coklat kehitaman dan tidak berwarna kekuningan. Hewan dewasa diperoleh dari area persawahan di Lowokwaru, Malang. Siput air *L. rubiginosa* diaklimatisasi selama 2 minggu di dalam akuarium berukuran 20 cm x 30 cm x 15 cm. Siput air *L. rubiginosa* diberi pakan daun *Lactuca sativa* dan daun *Rhoeo discolor* secara *ad libitum* (tanpa jumlah dan takaran) 2 kali dalam seminggu. Sebagian *L. rubiginosa* dikembangkan hingga menghasilkan *L. rubiginosa* juvenil. *Lymnaea rubiginosa* dewasa berumur 1-2 bulan dengan ukuran 0,8 cm 1,2 cm dan *L. rubiginosa* juvenil berumur 1-2 minggu berukuran 0,2-0,4 cm. Siput air *L. rubiginosa* tidak diberi pakan selama 1 hari sebelum dilakukan uji toksisitas akut dan sub akut. Jumlah total hewan uji *L. rubiginosa* dan *L. rubiginosa* juvenil yaitu 300 ekor.

3.4 Pembuatan Media Perlakuan Hewan Uji

Pembuatan media perlakuan hewan uji dibuat dengan cara melarutkan tablet MOSNON™ yang telah ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam akuarium berisi air 3 Liter. MOSNON™ ditimbang sesuai dengan perlakuan konsentrasi MOSNON™ yang diberikan pada hewan uji. MOSNON™ ditimbang sesuai dengan persamaan 1.

$$K = \frac{MOSNON}{V} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan : K = Konsentrasi larutan (1 ppm= 1 mg/L)
MOSNON = Bahan yang ditimbang (mg)
V = Volume air (3 Liter)

3.5 Uji Toksisitas Akut dan Sub Akut

Uji toksisitas akut berdasarkan metode OECD yang menggunakan hewan uji siput air. Siput air *L. rubiginosa* juvenil dan dewasa masing-masing sebanyak 10 ekor dimasukkan ke dalam akuarium berukuran 20 cm x 30 cm x 15 cm yang dilengkapi dengan aerator. Akuarium diisi dengan larutan MOSNON™ masing-masing dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm dengan 3 kali ulangan. Jumlah kematian (mortalitas) hewan uji (persamaan 2) dan faktor abiotik air (suhu, pH, DO dan turbiditas) diamati setiap hari selama 7 hari. Siput air *L. rubiginosa* diberi pakan daun *Lactuca sativa* dan daun *Rhoeo discolor* sehelai daun untuk seminggu. Uji toksisitas sub akut dilakukan dengan mengamati perubahan perilaku menghindari dari (air, pakan dan koloni) setiap hari selama 7 hari. Perubahan cangkang (warna dan ukuran) dan sisa pakan diamati sebelum dan setelah dua minggu perlakuan.

$$M = \frac{l}{n} \times 100 \% \dots\dots\dots (2)$$

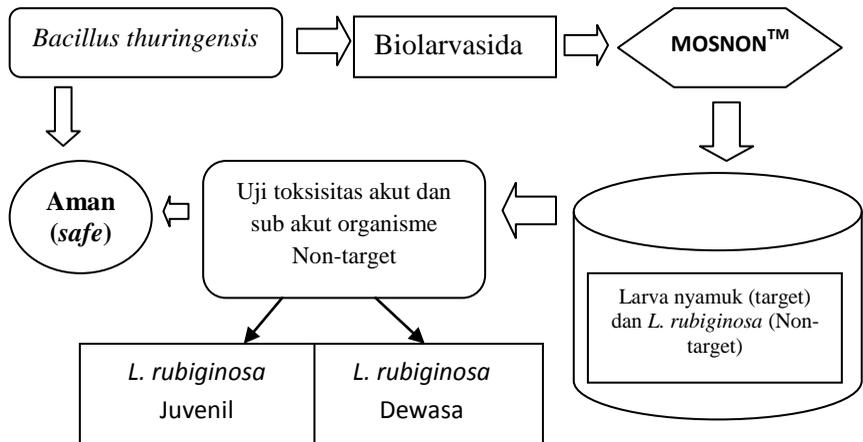
Keterangan : M= mortalitas
l = jumlah kematian
n= jumlah total hewan uji

3.6 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *Software* program *SPSS 16.0* dengan $\alpha=0,05$. Data diuji normalitas dan homogenitas. Normalitas data diuji dengan Kolmogorov-Smirnov dan homogenitas data diuji menggunakan *Levent test*. Selanjutnya Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk menentukan perbedaan toksistas. Data tidak berdistribusi normal dianalisis menggunakan Uji Mann-Withney.

3.7 Kerangka Konsep

Berikut adalah gambar yang menunjukkan kerangka berfikir konsep penelitian.



Gambar 3. Kerangka konsep penelitian