

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pembuatan perasan daun mimba dikerjakan di Laboratorium Reproduksi. Pemberian perlakuan dikerjakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, lalat didapatkan dari RPH Surya Surabaya. Observasi berlangsung pada bulan Desember 2023.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat

Banyak Alat yang dipergunakan dalam penelitian adalah timbangan, chopper, gelas ukur, tisu, alat saring, gloves, masker, kertas label, botol spray, jaring lalat, kandang lalat dalam bentuk kotak dan bulat.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan spray perasan daun mimba (*Azadirachta indica*) adalah daun mimba segar 600 gram dan aquades.

3.2.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah lalat penghisap darah (*Stomoxys calcitrans*) yang diperoleh dari kandang ternak di daerah Surabaya. *Stomoxys calcitrans* yang dipilih sebagai sampel adalah lalat yang dipilih secara acak, untuk membedakan lalat *Stomoxys calcitrans* dengan lalat

lainnya dapat dilihat dari tipe mulut yang memiliki *proboscis* untuk menusuk dan menghisap darah.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak kelompok. Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental. Sampel yang digunakan berupa alat penghisap darah (*Stomoxys calcitrans*) sebanyak 240 ekor. Penentuan ulangan dari perlakuan dihitung berdasarkan rumus rancangan acak kelompok sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian memakai beberapa variabel, yaitu:

- a. Variabel bebas : Konsentrasi perasan daun mimba
- b. Variabel terikat : Jumlah lama kematian *Stomoxys*

Calcitrans

- c. Variabel kendali: Suhu, kelembapan, dan lokasi pengambilan sampel
(suhu 22-26°C, kelembapan 35-60% di dalam laboratorium atau ruangan, jenis lalat terkendali yaitu selain lalat *Stomoxys calcitrans*).

3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diambil dari kandang ternak di daerah Surabaya, pengumpulan sampel lalat di ambil dengan menggunakan jaring serangga dengan diameter 30 cm, Sampel lalat di ambil sesuai dengan kriteria lalat yaitu lalat *Stomoxys calcitrans*, penangkapan lalat yaitu dengan cara mengayunkan alat jaring ke tubuh sapi. Lalat *Stomoxys calcitrans* yang telah ditangkap kemudian dimasukkan ke dalam kandang lalat berbentuk kotak yang sudah dilubangi, setiap kotak berisi 10 ekor lalat. Setelah sampel siap kemudian diberikan perlakuan dari perasan daun mimba yang telah dibuat sebelumnya.

3.3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan *Stomoxys calcitrans* yang sudah dibagi secara random ke 6 kelompok perlakuan dan 4 kali pengulangan dan masing-masing 10 ekor lalat. Sediaan spray perasan daun mimba yang kemudian disemprotkan ke dalam setiap kandang lalat berbentuk kotak.

Perlakuan yang digunakan sebagai berikut:

P0= Tanpa perlakuan (sebagai kontrol diberikan air mineral);

P1= Pemberian 20% perasan daun mimba (20 ml perasan daun mimba ditambahkan 80 ml aquades);

P2= Pemberian 40% perasan daun mimba (40 ml perasan daun mimba ditambahkan 60 ml aquades);

P3= Pemberian 60% perasan daun mimba (60 ml perasan daun mimba ditambahkan 40 ml aquades);

P4= Pemberian 80% perasan daun mimba (80 ml perasan daun mimba ditambahkan 20 ml aquades);

P5= Pemberian 100% perasan daun mimba (100 ml hasil perasan daun mimba).

3.3.5 Pembuatan Perasan Daun Mimba (*Azadirachta indica*)

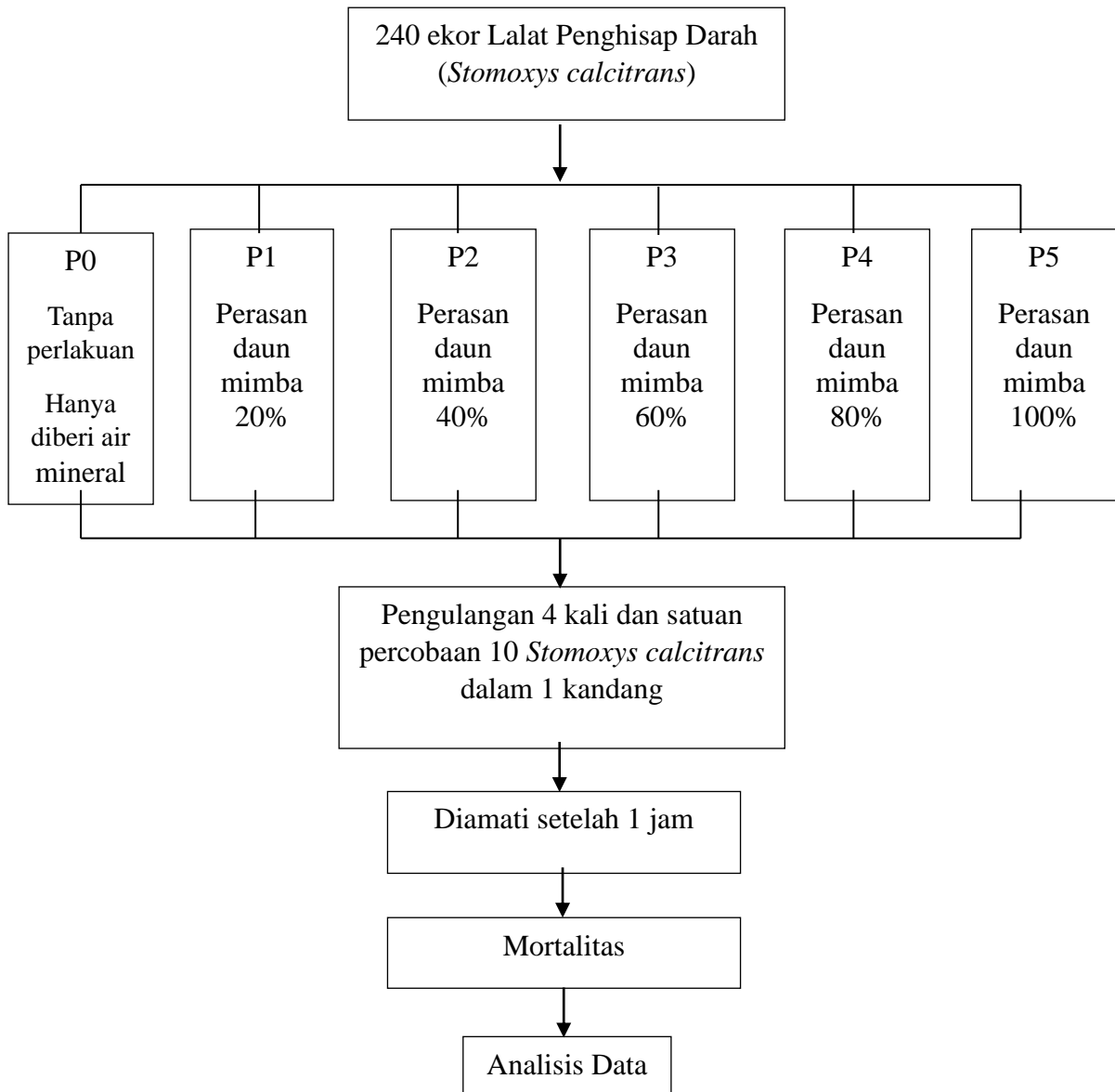
Pengerjaan spray perasan daun mimba ialah dengan membutuhkan sebanyak 600 gram daun mimba. Daun mimba ditimbang sebanyak 100 gram sebanyak 6 kali sama dengan 600 gram. Daun mimba dicuci hingga bersih, kemudian ditiriskan sisa air yang terdapat pada daun mimba. Daun mimba dimasukkan kedalam belender, dengan menambah aquades secukupnya dan belender hingga halus. Setelah itu dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan alat saring untuk mendapatkan sari hasil perasan daun mimba. Hasil perasan di tampung di dalam tabung erlenmeyer steril. Langkah berikutnya air perasan yang telah didapat dibuat 5 macam konsentrasi yaitu, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% serta menggunakan aquades untuk pengencer.

Pembuatan perasan daun mimba dengan konsentrasi 20% yaitu 20 ml hasil perasan daun mimba ditambahkan 80 ml aquades. Pembuatan perasan daun mimba dengan konsentrasi 40% yaitu 40 ml hasil perasan daun mimba ditambahkan 60 ml aquades. Pembuatan perasan daun mimba dengan konsentrasi 60% yaitu 60 ml hasil perasan daun mimba ditambahkan 40 ml aquades. Pembuatan perasan daun mimba dengan konsentrasi 80% yaitu 80 ml hasil perasan daun mimba ditambahkan 40 ml aquades. Pembuatan perasan daun mimba dengan konsentrasi 100% yaitu 100 ml hasil perasan daun mimba.

3.4.6 Prosedur perlakuan

Lalat *Stomoxys calcitrans* yang sudah ditangkap sebelumnya dimasukkan ke kandang lalat berbentuk kotak yang sudah dilubangi dengan masing-masing 10 ekor lalat lalu di berikan semprotan spray perasan daun mimba (*Azadirachta indica*) sesuai dengan kelompok perlakuan (P0, P1, P2, P3, P4, P5) dengan 4 kali pengulangan. Setiap konsentrasi perasan daun mimba disemprotkan pada lalat *Stomoxys calcitrans* masing-masing diberi 5 semprotan dengan tekanan moderat, jarak penyemprotan pada lalat dengan jarak optimal yaitu 5 cm. Kematian *Stomoxys calcitrans* diamati setelah 1 jam.

3.4.7 Kerangka Penelitian



3.5 Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk mencari perbedaan daya insektisida alami sediaan spray pada beberapa konsentrasi perasan daun mimba dan juga interval lama kematian *Stomoxys calcitrans* setelah 1 jam. Data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan Uji *One Way ANOVA*, kemudian dilanjutkan dengan ujian *Least significant differences (LSD)* memakai aplikasi SPSS dengan ketelitian ($P < 0,05$) dan uji Probit dengan nilai LC_{50} dan LC_{90} .