

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Peternakan ayam broiler menjadi salah satu usaha peternakan di Indonesia. Kandang broiler menggunakan alas *litter* yang akan menjadi sarang mikroba, karena kondisi lingkungan yang baik untuk mikroba mesofilik. Perkandangan ayam broiler menggunakan sistem *closed house*, dengan tujuan agar mikroklimat kandang lebih stabil dibandingkan dengan kandang tipe *opened house*. Sistem kandang *closed house* memiliki peran penting dalam mengatur kondisi mikroklimat kandang. Penggunaan sistem kandang *closed house* memungkinkan dalam mengatur kondisi mikrobiologis *litter*, karena faktor pertumbuhan, seperti suhu dan kelembaban dikendalikan. Hal ini mempengaruhi total bakteri dan jamur yang ditemukan pada *litter closed house* lebih sedikit daripada *litter opened house*, dengan perbandingan 8,33% (Soliman dan Abdallah, 2020). Kondisi pertumbuhan bakteri dan jamur dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah suhu dan kelembaban. Kandang *closed house* yang baik dapat mengatur kondisi mikroklimat pada kandang, sehingga perkembangan mikroba dapat dikendalikan.

Tujuan penelitian adalah mengkaji pengaruh perbedaan ketinggian lokasi kandang terhadap profil mikrobiologis *litter* broiler yang dipelihara secara *closed house*, meliputi total bakteri, total jamur, total bakteri gram positif, dan total bakteri gram negatif. Manfaat penelitian adalah memberi informasi pengaruh ketinggian terhadap mikrobiologi *litter* ayam broiler yang dipelihara di *closed house*. Hipotesis

penelitian adalah lokasi kandang yang semakin tinggi meningkatkan total mikrobiologis *litter* ayam broiler.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Ketinggian Daratan

Ketinggian daratan merupakan suatu tolak ukur suatu lokasi dari titik tertentu (Kalia *et al.*, 2018). Ketinggian kandang ayam broiler dihitung dengan ukuran meter dari permukaan laut (mdpl) (Qurniawan *et al.*, 2016). Perbedaan ketinggian lokasi mengakibatkan perbedaan kondisi makroklimat setiap kandang (Wahyudi dan Akbar, 2018). Ketinggian daratan mampu mempengaruhi makroklimat kandang, dan memberikan dampak yang cukup signifikan pada mikroklimat kandang (Wahyuningrum *et al.*, 2022). Endraswati *et al.* (2019) mengatakan, bahwa makroklimat yang disebabkan oleh perbedaan memiliki dampak terhadap mikroklimat kandang broiler, terutama sistem *opened house*. Suhu dan kelembaban juga merupakan faktor pertumbuhan mikroba, dengan perbedaan ketinggian mempengaruhi kondisi kondisi makroklimat, membuat pertumbuhan mikroba berbeda (Istiqomah dan Suryani, 2017). Dannemiller *et al.* (2017) mengatakan, bahwa aktivitas air adalah nilai kelembaban relatif dibagi seratus persen. Aktivitas air mempengaruhi kehidupan mikroba, karena memerlukan paling tidak lingkungan dengan aktivitas air lebih dari 0,6 untuk melakukan profilerasi (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2020). Menurut Labuza dan Altunakar (2020), bahwa aktivitas air dapat berpindah dari tinggi ke rendah, sehingga aktivitas air di *litter* dapat dipengaruhi oleh aktivitas air mikroklimat kandang *closed house*.

## **2.2. Pemeliharaan Broiler dengan Sistem *Closed House***

Kandang merupakan salah satu bagian dari manajemen ternak broiler yang memiliki fungsi utama berupa memberi kenyamanan dan melindungi ternak dari makroklimat, berupa suhu dan kelembaban (Firdaus *et al.*, 2020). Kelebihan kandang *closed house* adalah mikroklimat ayam broiler lebih dapat diatur sesuai kebutuhan (Susanti *et al.*, 2016). Kandang sistem *closed house* yang memiliki Standard Operating Procedure (SOP) yang baik memberikan kondisi mikroklimat lebih terkontrol dibandingkan dengan kandang sistem *opened house*. Alat pengatur sistem ventilasi maupun sirkulasi dapat mengatur suhu di kandang, dengan sistem kerja mengeluarkan udara di dalam kandang melalui *exhaust fan*, dan udara dari luar masuk melalui *cooling pad* (Dewanti *et al.*, 2014). *Blower* dan *cooling pad* berperan mengurangi suhu mikroklimat terlalu panas, sehingga mencegah terjadinya stress panas pada ayam broiler (Sandyawan dan Putra, 2020). Kelembaban dalam kandang juga diatur sesuai kebutuhan ayam (Risna *et al.*, 2022). Beberapa kandang broiler belum memiliki SOP yang baik, sehingga mikroba pada litter ayam broiler masih bisa hidup dengan baik (Atapattu *et al.*, 2017).

## **2.3. *Litter* Broiler**

Pemeliharaan broiler pada umumnya menggunakan litter sebagai alas kandang, termasuk pada kandang *closed house*. *Litter* merupakan alas kandang yang berfungsi menyerap air dan amonia, isolasi panas, serta meminimalkan ayam broiler kontak langsung dengan lantai (Najibulloh *et al.*, 2020). Bahan *litter* yang baik mempunyai sifat daya serap air baik, ringan, murah, mudah didapat, tidak

berdebu, tidak beracun, dan terus tersedia (Dewanti *et al.*, 2014). Kelebihan dari sistem *litter* adalah kondisi di dalam kandang lebih hangat, karena adanya kemampuan bahan *litter* dalam menahan panas (Olivia *et al.*, 2015). *Litter* mengandung protein yang tidak diserap ayam broiler, asam urat, dan senyawa nonprotein nitrogen yang berasal dari ekskreta (Hulu *et al.*, 2019).

*Litter* basah dan lembab merupakan faktor pendukung pertumbuhan mikroba (Praja dan Yudhana, 2017). *Litter* memiliki suhu dan kelembaban yang dipengaruhi oleh kondisi mikroklimat kandang, karena proses perpindahan panas dan kelembaban secara konveksi antara udara dan *litter* (Saputra *et al.*, 2020). Suhu ideal *litter* ayam broiler yang dipelihara pada kandang *closed house* berkisar 29-31°C (Mahardika *et al.*, 2021). Penelitian Metasari *et al.* (2014) menambahkan, bahwa suhu *litter* ayam broiler memiliki suhu rata-rata sebesar 31°C. *Litter* dan mikroklimat memiliki suhu dan kelembaban yang sama (Sanz *et al.*, 2021). Hal ini juga yang membuat aktivitas air pada *litter* dipengaruhi oleh kondisi makroklimat, karena aktivitas air dapat berpindah dari medium dengan aktivitas air tinggi menuju medium dengan aktivitas air rendah (Segers *et al.*, 2016). *Litter* yang memiliki kadar air dibawah 15% membuat aktivitas air menjadi dibawah 0.85 (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2020). Penelitian Van der Hoeven-Hangoor *et al* (2014) menyebutkan, bahwa *litter* yang memiliki kelembaban 70% memiliki aktivitas air hingga 0.9. Pertukaran air antara *litter* dan udara di dalam *closed house* berlangsung, hingga aktivitas air *litter* dipengaruhi oleh kelembaban udara (Dunlop *et al.*, 2016).

## 2.4. Total Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal yang hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop, dan memiliki bentuk kokus, batang, spiral, dan koma (Teme, 2017). Total bakteri merupakan keseluruhan bakteri yang terdapat pada suatu sampel dan dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU) per gram (Widodo, 2021). Total Bakteri dihitung menggunakan logaritma, karena bakteri membelah meningkat secara logaritma, sesuai dengan pertambahan waktu (Kartika, 2016). Pertumbuhan logaritma bakteri dipengaruhi oleh kadar nutrisi media, suhu inkubasi, pH, dan perpindahan oksigen (Kamal *et al.*, 2016). Bakteri dibedakan menjadi tiga berdasarkan kebutuhan oksigen untuk pertumbuhannya, yaitu bakteri aerobik, anaerobik, dan anaerobik fakultatif (Muhadi, 2011). Total bakteri *litter* ayam broiler bervariasi, sebagian besar *litter* ayam broiler mengandung bakteri aerobik sebanyak  $10^9$  CFU/g (Lu *et al.*, 2020). Total bakteri aerob *litter* ayam broiler dideteksi sebanyak  $10^9$  CFU/g (Katukurunda *et al.*, 2015). Penelitian Najibulloh *et al.* (2020) menyebutkan bahwa total bakteri pada *litter* bekas mencapai  $8,9 \times 10^6$  CFU/g.

Pertumbuhan bakteri disebabkan oleh beberapa faktor, seperti temperatur dan kelembaban (Hasibuan *et al.*, 2021). Bakteri dikelompokkan berdasarkan hubungan antara suhu pertumbuhan, yaitu psikrofil ( $10-20^\circ\text{C}$ ), mesofil ( $20-45^\circ\text{C}$ ) dan termofil ( $50-60^\circ\text{C}$ ) (Agus, 2016). *Litter* broiler merupakan kelompok mesofil, karena hidup pada temperatur mempunyai suhu pertumbuhan optimal  $15-45^\circ\text{C}$  (Badrah, 2020). Bakteri *litter* broiler memiliki kelembaban optimum untuk hidup berkisar 50-70% (Grund *et al.*, 2021). Ketinggian mempengaruhi suhu dan

kelembaban, sehingga mempengaruhi total bakteri (Wiliantari *et al.*, 2018). Aktivitas air merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi perkembangan bakteri, karena sebagian bakteri melakukan proliferasi pada ruangan dengan aktivitas air sebesar 0.87 (Beuchat *et al.*, 2013).

## **2.5. Bakteri Gram Positif**

Bakteri gram positif merupakan bakteri yang memiliki dinding sel yang tebal, membran sel selapis, serta tidak memiliki membran luar (Putri *et al.*, 2018). Bakteri gram positif memiliki lapisan *peptidoglycan* yang tebal (Oktaviani *et al.*, 2019). Bakteri gram positif dapat diketahui dengan warna ungu pada pewarnaan gram yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna dari proses pewarnaan gram (Safrida *et al.*, 2012). Perkembangan bakteri gram positif *litter* ayam broiler dipengaruhi oleh suhu, dengan suhu pertumbuhan optimal berkisar 29-40°C (Ahmed *et al.*, 2012). Wizna *et al.* (2013) berpendapat, bahwa bakteri berspora pada *litter* memiliki suhu pertumbuhan optimum berkisar 35-37°C. Bakteri gram positif juga memerlukan aktivitas air yang cukup. Penelitian Heitmann *et al.* (2020) menyebutkan, bahwa bakteri gram positif dapat hidup baik pada lingkungan dengan kadar air 37%, dan aktivitas air sebesar 0.9. Vaz *et al.* (2017) berpendapat, bahwa bakteri gram positif hidup kurang optimal pada lingkungan dengan kadar air kurang dari 12%. Bakteri gram positif *litter* ayam broiler berbentuk kokus berasal dari genus *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Crippen *et al.*, 2022). Bakteri gram positif berbentuk batang, seperti *Corynebacterium* menghasilkan amonia dari asam urat pada *litter* ayam broiler

([Gutierrez dan Schneider, 2022](#)). Bakteri gram positif berspora ditemukan pada *litter* ayam broiler (Kumbhakar *et al.*, 2018). Penelitian Jenkins *et al.* (2020) menyebutkan, bahwa bakteri gram positif batang berspora pada *litter* ayam broiler contohnya *Clostridium*.

## **2.6. Bakteri Gram Negatif**

Bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna, karena saat dibilas dengan alkohol 95%, lipid dari dinding sel terekstraksi, pori-pori sel mengembang, membuat zat pewarna keluar dari sel, sehingga membuat sel jadi tidak berwarna. (Mansur *et al.*, 2015). Bakteri gram negatif tidak memiliki *peptidoglycan*, tetapi mempunyai dinding sel yang tipis yang berada diantara dua lapis membran sel (Putri *et al.*, 2018).

Bakteri gram negatif ditemukan pada *litter* ayam broiler memiliki frekuensi berkisar 1-33 CFU/g setiap jenis bakteri dengan total keseluruhan 124 (Elmanama *et al.*, 2018). Pertumbuhan bakteri gram negatif pada *litter* ayam broiler dipengaruhi oleh suhu kandang, yaitu sebesar 20-40°C dengan suhu pertumbuhan optimum berkisar 35-37°C (Rudiyansyah, 2015). Selain suhu, bakteri gram negatif perlu kelembaban yang cukup untuk proses proliferasi atau berkembangbiakan. Heitmann *et al.* (2020) berpendapat, bahwa bakteri gram negatif dapat hidup baik pada kelembaban *litter* sebesar 37% dengan aktivitas air minimal 0.92. Bakteri gram positif *litter* ayam broiler paling sering ditemukan berbentuk batang (Yasmeen *et al.*, 2020). Contoh bakteri gram negatif berbentuk batang berasal dari genus *Escherichia* dan *Salmonella* (Mardiansyah dan Bahri, 2016). Bakteri gram

negatif bentuk batang sering ditemukan di *litter* ayam broiler, sebagian besar berjenis *Salmonella* dan *Coliform* (Riza *et al.*, 2018). Bakteri gram negatif, ditemukan di *litter* ayam broiler sebanyak  $4,3 \times 10^7$  CFU/g, serta menjadi sumber amonia (Badrah, 2020).

## **2.7. Total Jamur**

Jamur merupakan salah satu organisme pengurai bahan organik kompleks menjadi bahan sederhana (Solle *et al.*, 2018). Jamur terdiri dari kapang, yaitu jamur yang mempunyai miselium dan pertumbuhannya mudah dilihat, karena berserat seperti kapas, serta khamir, yaitu jamur uniseluler yang lebih efektif dalam memecah komponen kimia (Fardiaz, 1992). Jamur dibedakan berdasarkan suhu lingkungan, yaitu psikrofil (10-30°C), mesofil (20-40°C), dan termofil (40-50°C) (Hakim dan Kurniatuhadi, 2020). Kapang hidup secara aerob, tumbuh optimal pada kisaran suhu 25-30°C (Fardianz, 1988). Penelitian Katukurunda *et al.* (2015) menyebutkan jamur *litter* broiler sebanyak  $10^8$  CFU/g. Jamur *litter* tergolong kedalam jamur mesofil, karena hidup optimal pada suhu 21-32°C dan kelembaban di atas 70% (Islam *et al.*, 2014). Jamur jenis kapang seperti *Aspergillus* sp. ditemukan pada kandang broiler (Harahap *et al.*, 2018). Kandungan jamur *litter* ayam broiler bersuhu 26°C dan kadar air 75% sebesar  $8,5 \times 10^4$  CFU/g (Fayzrakhmanov *et al.*, 2020). Jamur seperti *Aspergillus* sp. sering ditemukan pada *litter* ayam broiler, karena dapat mencerna amilum dan selulosa pada *litter*, dengan menghasilkan enzim amilase dan selulase (Pambudi *et al.*, 2019). Jamur dapat tumbuh pada *litter* ayam broiler, dengan menyerap nutrisi pada *litter* (Sarvi *et al.*,

2021). *Litter* merupakan sumber infeksi *Aspergillus*, sehingga menjadi sumber menyebabkan penyakit aspergillosis (Praja dan Yudhana, 2017). Perkembangan spora jamur didukung kondisi lingkungan, seperti ventilasi, kelembaban dan kadar ammonia yang tinggi pada kandang, serta *litter* basah (Nurrady *et al.*, 2018).

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Materi Penelitian**

Bahan yang digunakan adalah *litter* ayam broiler yang diambil dari ketinggian yang berbeda, *aquadest*, NaCl fisiologis 0,9%, *Potato Dextrose Agar* (PDA) pH 6, *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) pH 5, *methylen blue*, tisu, *Safranin*, serta alkohol 95%. Alat yang digunakan berupa *thermo hygrometer*, *erlenmeyer*, kertas label, cawan petri, batang pengaduk, volume pipet, tabung reaksi, inkubator, *slide glass* dan lampu Bunsen.

#### **3.2. Metode**

Metode penelitian terdiri atas pengambilan sampel, tahap penelitian, pengambilan data dan analisis data.

##### **3.2.1 Tahap Persiapan**

Kegiatan penelitian dengan tahap awal, yaitu dengan koordinasi dengan pihak kemitraan PT. Cemerlang Unggas Lestari perihal pelaksanaan penelitian, dimulai dari pengambilan sampel *litter* broiler dari 15 kandang yang telah dipemanen. Lokasi kandang wilayah Kabupaten Kendal berada di Boja dan Singorojo, wilayah Kota Semarang berada di Tembalang dan Gunungpati, serta wilayah Kabupaten Demak berada di Sayung, Guntung, dan Karangawen. Pemilihan lokasi penelitian dilakukan secara sengaja (*purposive*), yaitu lokasi

kandang memiliki ketinggian daratan yang berbeda, untuk mengetahui pengaruh perbedaan iklimat setiap daratan terhadap kondisi mikrobiologis *litter* kandang *closed house*. Kondisi yang diukur pada kandang ayam broiler adalah data iklimat dan iklimat kandang, untuk mengetahui pengaruh ketinggian daratan terhadap kondisi iklimat kandang.

### **3.2.2. Tahap Penelitian**

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan, perlakuan tersebut sebagai berikut.

T1 : ketinggian daratan 0-100 meter di atas permukaan laut (m dpl)

T2 : ketinggian daratan 100-300 m dpl

T3 : ketinggian daratan 300-500 m dpl

Daratan tepat 100 m dpl masuk ke dalam perlakuan T1 dan daratan tepat 300 m dpl masuk ke dalam perlakuan T2, karena merupakan titik akhir perlakuan. *Litter* yang dikumpulkan, selanjutnya ditimbang 1 kg dari setiap peternakan, dan dianalisis berdasarkan perlakuan.

### **3.2.3. Tahap Pengambilan Data**

Data yang menjadi penelitian adalah profil mikrobiologis *litter* ayam broiler, meliputi total bakteri, total jamur, total bakteri gram positif dan total bakteri gram negatif, serta data iklimat dan iklimat kandang, berupa suhu dan kelembaban, untuk mengetahui perbedaan pengaruh ketinggian terhadap kondisi di dalam kandang *closed house*.

**a. Pengambilan Data Makroklimat dan Mikroklimat Kandang**

Pengambilan data makroklimat dan mikroklimat dilakukan menggunakan *thermo hygrometer*. Data makroklimat dan mikroklimat kandang diukur rata-rata pada pagi (07.00-11.00 WIB), siang (12.00-18.00 WIB) dan malam (19.00-06.00 WIB). Data berupa suhu dan kelembaban dicatat kemudian dilakukan uji ANOVA. Hasil pengamatan berupa suhu dan kelembaban, baik mikroklimat maupun makroklimat disajikan pada Lampiran 1 hingga Lampiran 4.

**b. Pengambilan Sampel *Litter***

Sampel yang digunakan adalah litter ayam broiler dengan umur panen 30 hari pada kandang *closed house* yang telah dilakukan pemanenan berkisar 1-3 hari. Metode pengumpulan litter ayam yang dilakukan dengan secara acak menggunakan metode *random purposive sampling*. Sampel litter diambil di sebelas tempat secara acak.

**c. Pengambilan Data Total Bakteri**

Pengambilan data total bakteri dilakukan dengan mempersiapkan alat yang sudah disterilkan. Manure diambil 10 g dari *litter*, kemudian dilarutkan dengan 90 ml *aquadest* di dalam *erlenmeyer*. Suspensi sebanyak 1 ml dipindah dengan volume pipet ke dalam tabung reaksi yang telah diisi 9 ml NaCl fisiologis, untuk menghambat pertumbuhan bakteri akibat perbedaan osmotik, untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Tabung reaksi disiapkan, dan masing-masing diberi tanda  $10^{-2}$  sampai  $10^{-10}$  menggunakan kertas label. Setiap tabung reaksi diisi 9 ml NaCl

fisiologis menggunakan volume pipet. Hasil pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml menggunakan volume pipet, dan dipindahkan ke pengenceran selanjutnya, yaitu  $10^{-2}$  (prosedur dilakukan dengan cara sama pada pengenceran  $10^{-3}$  hingga  $10^{-10}$ ). Cawan petri disiapkan, dan diberi tanda sesuai dengan kode pengenceran menggunakan kertas label. Sampel sebanyak 1 ml diambil dari hasil pengenceran menggunakan volume pipet, lalu masukkan ke dalam cawan petri dengan kode pengenceran yang sama. PDA ditambahkan ke dalam cawan petri sebanyak 15-20 ml bersuhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Larutan sampel dan PDA dihomogenkan dalam cawan petri, dengan cara diaduk menggunakan batang pengaduk, lalu didiamkan hingga media membeku dengan posisi cawan petri tertutup. Sampel dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu  $35-37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam dengan cara dibalik, supaya sampel tidak dirusak oleh tetesan embun air, dan sampel dibungkus menggunakan kertas sampul, untuk menjaga kondisi tetap steril. Koloni pada cawan petri dihitung menggunakan *colony counter*. Perhitungan total bakteri menggunakan rumus: Total bakteri = jumlah bakteri  $\times$  (1/Faktor pengenceran) (Indrayati *et al.*, 2017). Hasil perhitungan total bakteri disajikan pada lampiran 5.

#### **d. Pengambilan Data Gram Bakteri**

Pengambilan data gram bakteri dilakukan dengan cara sampel bakteri *litter* diletakkan di atas *slide glass*, lalu dilakukan fiksasi pada sampel dengan bagian bawah *slide glass* dipanaskan dengan lampu Bunsen, untuk mematikan bakteri tanpa merusak struktur selnya. Sampel dibiarkan beberapa saat agar tidak terlalu panas, kemudian sampel ditetesi dengan menggunakan *methylen blue*, agar bakteri

mendapatkan warna. Sampel didiamkan 1 menit dan dicuci dengan air bersih mengalir. Sampel disiram menggunakan alkohol 95%, lalu didiamkan dengan tisu 30 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir. Sampel diberi *safranine*, kemudian didiamkan selama 30 detik, lalu dilakukan pengamatan. Warna ungu kebiruan menunjukkan gram positif, dan warna merah menunjukkan gram negatif (Khaerunnisa *et al.*,2017). Data hasil identifikasi bakteri gram positif dan negatif disajikan pada Lampiran 7.

**e. Pengambilan Data Total Jamur**

Pengambilan data total jamur hampir sama dengan pengambilan data total bakteri, yaitu diawali manure diambil 10 g dari litter, kemudian dilarutkan di dalam erlenmeyer dengan 90 ml *aquadest*. Suspensi sebanyak 1 ml dipindah dengan volume pipet ke dalam tabung reaksi yang telah diisi 9 ml NaCl fisiologis, untuk menghambat pertumbuhan jamur akibat perbedaan osmotik, untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Tabung reaksi disiapkan, dan diberi tanda  $10^{-2}$  sampai  $10^{-10}$  menggunakan kertas label. Setiap tabung reaksi diisi 9 ml NaCl fisiologis menggunakan volume pipet. Hasil pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml menggunakan volume pipet, dan dipindahkan ke pengenceran selanjutnya, yaitu  $10^{-2}$ . Prosedur diulang dengan cara sama pada pengenceran  $10^{-3}$  hingga  $10^{-10}$ . Cawan petri disiapkan, dan diberi tanda sesuai dengan kode pengenceran menggunakan kertas label. Sampel sebanyak 1 ml diambil dari hasil pengenceran menggunakan volume pipet, lalu masukkan ke dalam cawan petri dengan kode pengenceran yang sesuai. SDA ditambahkan ke dalam cawan petri sebanyak 15-20 ml bersuhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Larutan

sampel dan SDA dihomogenkan dalam cawan petri, dengan cara diaduk menggunakan batang pengaduk, lalu didiamkan hingga media membeku dengan posisi cawan petri tertutup. Sampel dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 35-37°C selama 24 jam dengan cara dibalik, supaya sampel tidak dirusak oleh tetesan embun air, dan sampel dibungkus menggunakan kertas sampul, untuk menjaga kondisi tetap steril. Koloni pada cawan petri dihitung menggunakan *colony counter* (Tivani et al., 2018). Perhitungan total jamur menggunakan rumus: Total jamur = jumlah jamur  $\times$  (1/Faktor pengenceran) (Rudi dan Rahmatullah, 2021). Media yang digunakan adalah SDA, karena memiliki pH asam, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Basarang *et al.*, 2018). Hasil perhitungan total jamur disajikan pada Lampiran 6.

#### **f. Pemberian Skor Gram Bakteri**

Bakteri yang telah diberi perlakuan pewarnaan gram kemudian diberikan skor. Sampel pewarnaan gram bakteri diberi skor berdasarkan kriteria berikut (Winarsih *et al.*, 2019):

skor 1: tidak terdapat jenis bakteri gram positif/negatif

skor 2: terdapat satu jenis bakteri gram positif/negatif

skor 3: terdapat dua jenis bakteri gram positif/negatif

skor 4: terdapat tiga jenis bakteri positif/gram negatif

skor 5: terdapat empat bakteri positif/gram negatif

Hasil pengamatan pewarnaan gram disajikan pada Lampiran 7, kemudian dihitung pada Lampiran 8 dan Lampiran 9.

#### 3.2.4. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini ada variabel bebas, terikat, dan antara. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ketinggian lokasi kandang broiler. Variabel terikat penelitian ini adalah total bakteri, total jamur, total bakteri gram positif dan total bakteri gram negatif. Variabel antara penelitian ini adalah suhu makroklimat dan mikroklimat kandang *closed house* ayam broiler.

#### 3.2.5. Analisis Data

Data yang telah diperoleh diuji menggunakan analisis ragam, untuk parameter total jamur. Data diolah dengan program *Excel* 2016, dan didukung dengan program analisis *SPSS*. Data total bakteri, total jamur dan pewarnaan gram bakteri dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA), kemudian data disajikan dalam bentuk tabel, dan hasilnya diinterpretasikan, untuk diambil kesimpulan (Utama *et al.*, 2013). Uji Wilayah Berjarak *Duncan* dengan taraf 5% dilakukan apabila terdapat perbedaan pada setiap perlakuan (Embarsari *et al*, 2015). Model linear yang menjelaskan setiap nilai pengamatan menggunakan model Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan model linear aditif:

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

Keterangan:

i = Perlakuan (1, 2, 3)

j = Ulangan (1, 2, 3, 4, 5)

$Y_{ij}$  = Kualitas mikrobiologis broiler yang memperoleh perlakuan ketinggian ke  
– i

- $\mu$  = Nilai tengah kualitas mikrobiologis *litter* broiler
- $\tau_i$  = pengaruh perlakuan perbedaan ketinggian daratan pada *litter* ke-i
- $\epsilon_{ij}$  = Perlakuan galat percobaan pada kualitas mikrobiologis *litter* broiler ke – j yang memperoleh perlakuan perbedaan daratan ke-i.

### 3.4.5. Hipotesis Statistik

Hipotesis Penelitian adalah terdapat pengaruh ketinggian daratan terhadap profil litter ayam broiler yang dipelihara di *closed house*.

Hipotesis statistiknya adalah:

- H0 :  $\tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$ ; tidak ada pengaruh ketinggian daratan terhadap profil mikroba *litter* broiler
- H1 : minimal ada 1  $\tau_i \neq 0$ ; ada pengaruh perbedaan daratan terhadap profil mikroba *litter* broiler

Kaidah penarikan hasil, yaitu kriteria untuk pengambilan simpulan adalah, apabila  $F_{hitung} < F_{tabel}$  maka terima H0 dan tolak H1, dan apabila  $F_{hitung} \geq F_{tabel}$  maka tolak H0 dan terima H1.