

Metabolit sekunder pada ekstrak *Chlorella sp.* yang dikultur pada media limbah ternak ayam

Devy Susanty*¹, Ade Ayu Oksari², Rizky Izani¹

¹Program Studi kimia, FMIPA, Universitas Nusa Bangsa
²Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Nusa Bangsa,
Jl. KH. Sholeh Iskandar Km. 4, Tanah Sareal, Bogor
e-mail: *dvsusanty@gmail.com

Diterima: 10 September 2019 / Disetujui: 7 Desember 2019 / Dipublikasi online: 31 Desember 2019
DOI: <https://doi.org/10.22437/chp.v4i2.7615>

ABSTRAK

Pencemaran lingkungan yang berasal dari limbah ternak ayam broiler dapat dikurangi dengan memanfaatkan kotoran ayam sebagai media tumbuh. Pada penelitian ini, Chlorella sp (inaCC M39) dikultur pada media limbah ternak ayam Broiler dengan konsentrasi 20 gram/L. Limbah yang digunakan merupakan kotoran ayam broiler yang telah dikeringkan. Kadar Nitrogen (N), Fospor (P), dan Kalium (K) dianalisis menggunakan metode kjeldahl (N), dan metode spektrofotometri (P dan K). Kadar N pada limbah kotoran ayam yaitu 0,8%, kadar P sebesar 0,041%, dan kadar K sebesar 112,58 mg/L. Pertumbuhan Chlorella sp diamati selama 16 hari setiap 48 jam dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 680 nm. Jumlah sel tertinggi terdapat pada hari ke-14. Biomassa Chlorella sp diekstrak dengan pelarut kloroform dan dilanjutkan dengan pelarut metanol, lalu dilakukan uji fitokimia. Ekstrak metanol Chlorella sp memiliki kandungan steroid dan saponin.

Kata Kunci : limbah, ayam broiler, media, Chlorella sp., ekstrak

ABSTRACT

Environmental pollution from broiler chicken waste can be reduced by utilizing chicken manure as a growing medium. In this study, Chlorella sp (inaCC M39) was cultured on Broiler chicken waste media with a concentration of 20 grams/L. The waste used is dried broiler chicken manure. Nitrogen (N), Phosphorus (P), and Potassium (K) levels were analyzed using the Kjeldahl (N) method, and the spectrophotometric method (P and K). N level in chicken manure waste is 0.8%, P level is 0.041%, and K level is 112.58 mg / L. The growth of Chlorella sp. was observed for 16 days every 48 hours with a spectrophotometer at a wavelength of 680 nm. The highest number of cells was found on the 14th day. Chlorella sp. biomass was extracted with chloroform solvents and followed by methanol solvents, then phytochemical tests were performed. The methanol extract of Chlorella sp. contains steroids and saponins.

Keywords: waste, broiler chicken, media, Chlorella sp., extract

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroorganisme yang banyak terdapat di perairan dan tanah. Metabolisme yang mirip dengan tumbuhan tingkat tinggi dan kompleks menjadikan mikroalga menarik untuk diteliti kebermfaatannya dalam berbagai aspek. Senyawa metabolit yang dihasilkan oleh mikroalga menjadi faktor penting

dalam menentukan kegunaan mikroalga tersebut. Manfaat mikroalga telah banyak diteliti untuk beberapa aspek diantaranya sebagai sumber energi terbarukan (Chisti, 2008; Brennano dan Owende, 2010; Li *et al.*, 2011), antioksidan (Guedes *et al.*, 2011; Guedes *et al.*, 2013), antikanker (Sheih *et al.*, 2010; Samarakoon *et al.*, 2013), dan antimikroba (Hamawi, 2015; Pane *et al.*, 2015).

Media kultur menjadi salah satu faktor yang penting dalam pertumbuhan dan metabolisme mikroalga. Pemilihan media kultur sebaiknya mempertimbangkan biaya yang dibutuhkan sehingga pemanfaatan mikrolaga khususnya *Chlorella* sp. tidak mengeluarkan biaya yang besar. Salah satu solusi dalam menekan biaya kultur mikroalga yaitu dengan memanfaatkan limbah. Beberapa limbah telah diteliti mampu menjadi media kultur mikroalga (Djaghoubi *et al.*, 2015; Azhar *et al.*, 2017; Farooq *et al.*, 2013).

Perkembangan jenis makanan yang diolah dari ayam broiler memberikan efek pada meluasnya peternakan ayam broiler di Bogor. Hal ini berdampak pada semakin banyaknya limbah kotoran yang dihasilkan. Limbah kotoran ternak ayam broiler menjadi salah satu limbah yang diharapkan mampu sebagai media kultur mikroalga karena diduga kuat mengandung unsur hara utama yang dibutuhkan mikroalga yaitu Nitrogen (N), Fosfor (P), dan Kalium (K). Untuk itu perlu dilakukan penelitian pemanfaatan limbah ayam broiler sebagai media kultur *Chlorella* sp. dengan harapan dapat mengurangi dampak limbah terhadap lingkungan dan mampu menekan biaya produksi *Chlorella* sp.

Pada penelitian ini, kandungan N, P, dan K pada kotoran ayam broiler dianalisis dan kultivasi *Chlorella* sp dilakukan pada media kotoran ayam broiler dengan konsentrasi 20 gram/L. Biomassa *Chlorella* sp diekstrak dengan kloroform, dilanjutkan dengan methanol dan dilakukan uji fitokimia.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu kotoran ayam broiler yang diperoleh dari kandang ayam di Cijeruk, *Chlorella* sp (InaCC M39), Kloroform, Metanol (SMART-LAB), CuSO₄. 5H₂O, Na₂SO₄ anhidrat, H₂SO₄ pekat, NaOH, HCl, akuades, pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner, Pereaksi Dragendorf, Mg, HClO₄. Peralatan yang digunakan yaitu Buchi Scrubber K-415, Buchi Distillation unit K350, ICP-OES Perkin Elmer, Spektrofotometer UV-Vis Agilent, dan peralatan gelas lainnya.

Penentuan Kadar Nitrogen (N) pada kotoran ayam

Penentuan kadar N dilakukan dengan metode kjeldahl menggunakan 0,5 gram kotoran ayam kering serta penambahan natrium sulfat, tembaga sulfat, dan asam sulfat pekat. Larutan yang telah dipanaskan pada labu ditambahkan NaOH 0,5N. Proses destilasi dilakukan dengan HCl, selanjutnya kelebihan HCl dititrasi dengan NaOH.

$$\% \text{Nitrogen} = \frac{(\text{Volume titrat blanko} - \text{Volume titra sampel}) \times 1,4 \times \text{Normalitas N} \times F_k}{\text{berat sampel (gram)}}$$

Penentuan Kadar Fosfor (P) pada kotoran ayam

Limbah kotoran ayam broiler kering yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 gram. Sampel ditambahkan HNO₃, dididihkan dan ditambahkan HClO₄. Kadar P ditentukan dengan metoda spektrofotometri pada panjang gelombang 400 nm.

Penentuan Kadar Kalium (K) pada kotoran ayam

Penentuan kadar K dilakukan dengan penambahan HNO₃ dan HClO₃ pada 0,5 gram sampel limbah kotoran pada labu Kjeldahl. Serangkaian proses destruksi dilakukan untuk mendapatkan ekstrak jernih. Kadar K diukur menggunakan *Inductively Couple Plasma (ICP)*.

Kultivasi dan Pertumbuhan *Chlorella sp* pada media limbah kotoran ternak ayam

Limbah kotoran ternak ayam broiler dilarutkan dengan akuades dengan konsentrasi 20 gram/L sebagai media tumbuh. Kultivasi *Chlorella sp* dilakukan pada media kotoran ayam dengan suhu 30 °C dan menggunakan pencahayaan dari 2 lampu TL 18 watt (3000 Lux). Densitas sel dihitung dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 680 nm.

Ekstraksi metabolit sekunder dari *Chlorella sp*.

Chlorella sp. yang dikultur selama 14 hari dikumpulkan dengan cara disentrifius (1500 rpm, 10 menit), kemudian biomassa dilarutkan dengan pelarut klorofom dengan perbandingan biomassa sel dengan pelarut 1:10 (b/v). Larutan ditempatkan pada Erlenmeyer 250 mL, lalu dikocok menggunakan *shaker* (72 jam), disaring sehingga diperoleh Ekstrak kloroform. Biomassa sisa ekstraksi pertama, diekstrak lagi dengan Metanol dan diperoleh ekstrak methanol. Pelarut diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Kualitatif Fitokimia Ekstrak *Chlorella* sp

Uji kandungan bioaktif alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan tanin (metode uji fitokimia) dilakukan berdasarkan Harborne (1984) yang dimodifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Unsur N, P dan K umumnya diperlukan oleh tumbuhan, termasuk mikroalga. Limbah kotoran ternak diketahui memiliki nutrisi untuk media tumbuh mikroalga. Kotoran Ayam broiler yang merupakan salah satu Limbah Ternak Ayam Broiler diperkirakan mengandung unsur N, P, dan K sehingga mampu dijadikan media untuk kultivasi *Chlorella* sp. Menurut Hariatik (2014), unsur N, P dan K banyak terdapat pada feses ternak. Pancapalaga (2011) menyatakan pupuk kandang yang berasal dari feses ayam mengandung Nitrogen sebesar 1%, Fosfor 0,8 % dan Kalium 0,4%. Kandungan zat hara pada pupuk kandang yang berasal dari feses ayam lebih tinggi dari feses sapi (Lingga, 1999). Berdasarkan hasil penelitian, sampel kotoran ayam Broiler memiliki kandungan N, P, dan K seperti Tabel 1.

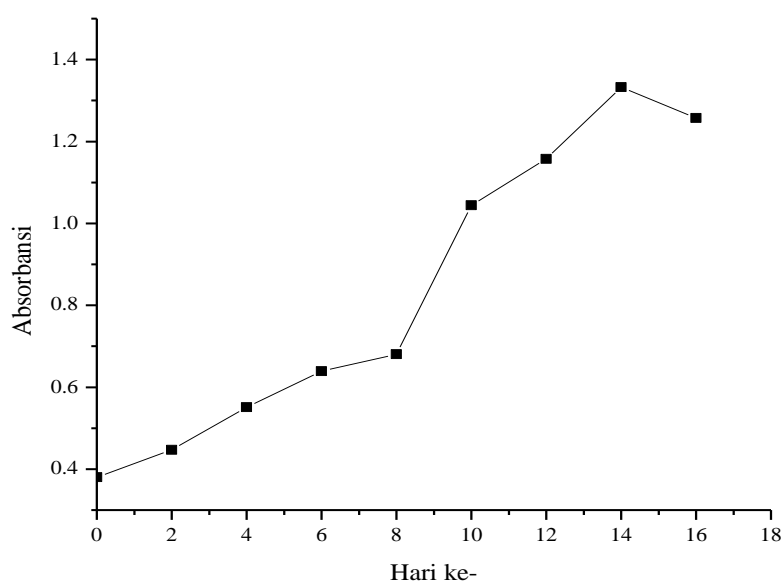
Tabel 1. Kadar N, P, dan K pada kotoran ayam broiler

Unsur	Kadar
Nitrogen	0,8 %
Fosfor	0,041%
Kalium	112,58 mg/L

Secara umum, mikroalga tumbuh seperti mikroba dengan melalui 4 fase (Zhao *et al.*, 2014). *Chlorella* sp. Memiliki kemampuan untuk hidup pada media limbah ternak ayam broiler dengan konsentrasi 20 gram/L (Gambar 1). Fase lag atau adaptasi tidak begitu terlihat, ini menandakan bahwa *Chlorella* sp mampu beradaptasi dengan baik dan mampu tumbuh dalam media limbah ternak ayam broiler. Pertumbuhan yang lebih cepat dimulai dari hari ke delapan dan mencapai puncak pada hari ke-14 Penurunan tumbuh atau fase kematian *Chlorella* sp. terjadi setelah 14 hari. Hal ini disebabkan semakin berkurangnya nutrisi yang tersedia pada media.

Mikroalga membutuhkan nitrogen dalam jumlah tertentu, khususnya untuk proses transportasi, katabolisme, asimilasi, dan khususnya biosintesis protein (Agustini dan Kabinawa, 2002 *dalam* Manalu, 2010). Fosfor berperan dalam pembentukan sel mikroalga dan transport energi, sedangkan kalium berperan dalam pembentukan karbohidrat (Manalu, 2010). Limbah kotoran ayam broiler mengandung 0,8% Nitrogen total, dengan perbandingan N dan P yaitu 20:1.

Perbandingan N dan P tersebut dianggap sesuai untuk pertumbuhan mikroalga. *Chlorella* sp. dapat tumbuh pada media POME dengan perbandingan N dan P sebesar 16: 1 (Mahdi et al., 2012). Menurut Paes *et al.* (2016), *Chlorella* sp. mampu tumbuh pada media tanpa nitrogen namun berpengaruh pada konsentrasi lipid. Susanty (2017) menyatakan konsentrasi nitrogen pada media mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Toleransi mikroalga terhadap nitrogen dalam bentuk amonium menjadi faktor penentu kemampuan bioremediasi mikroalga terhadap amonium yang terdapat pada limbah (Wang, 2019). Mikroalga memiliki kemampuan menyerap nutrisi yang ada pada limbah atau sebagai bioremediasi sejalan dengan pertumbuhannya (azhar *et al.*, 2017).



Gambar 1. Pertumbuhan *Chlorella* sp pada media kotoran ayam broiler 20 g/L

Tabel 2. Uji fitokimia ekstrak *Chlorella* sp.

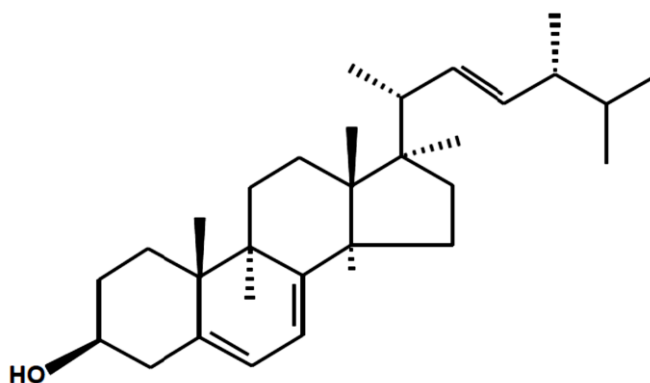
Nama Uji	Hasil	
	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Metanol
Alkaloid	(-)	(-)
Flavonoid	(-)	(-)
Terpenoid/Steroid	(-)	(+)
Saponin	(-)	(+)
Tanin	(-)	(-)

Keterangan: (+) : ada
(-) : Tidak ada

Uji fitokimia menunjukkan adanya steroid dan saponin pada ekstrak metanol, sedangkan pada ekstrak kloroform tidak menunjukkan keberadaan senyawa metabolit sekunder. Hasil negatif pada semua uji fitokimia pada ekstrak

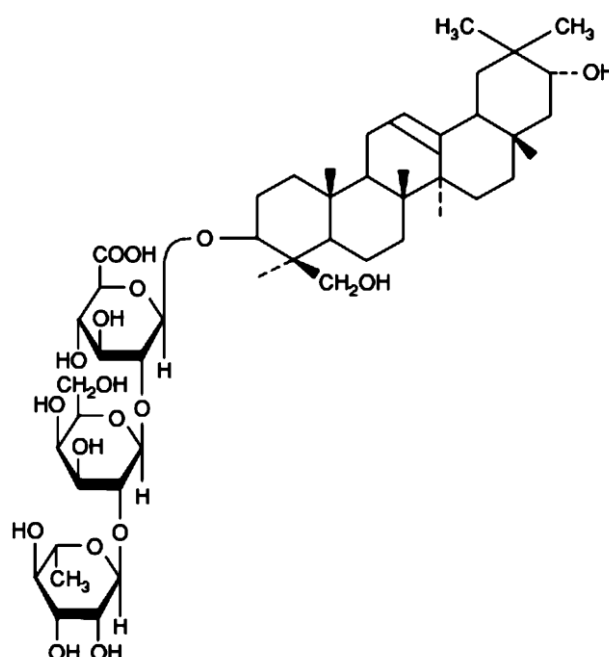
kloroform dapat disebabkan oleh ketidaksesuaian pelarut ekstraksi dengan senyawa metabolit sekunder. Ekstraksi dengan pelarut methanol diketahui lebih mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang ada pada *Chlorella* sp. Fithriani *et al.* (2015) memperoleh hasil ekstrak etanol *Chlorella* sp. mengandung tanin, flavonoid, steroid, glikosida, saponin dan alkaloid. Senyawa golongan steroid juga diketahui ada pada ekstrak metanol *Chlorella* sp. yang dikultur pada Media Ekstrak Tauge (Bariyyah, *et al.*, 2013; Fasya, 2013).

Adanya steroid dan saponin pada ekstrak metanol *Chlorella* sp. memungkinkan ekstrak tersebut dapat dimanfaatkan dalam berbagai aspek. Steroid yang terdapat pada mikroalga umumnya berupa fitosterol yang dapat berfungsi sebagai antidiabetes, antioksidan, dan antiinflamasi (Sathasivam *et al.*, 2019). Keberadaan fitosterol pada mikroalga berdampak pada pengembangan kultur mikroalga untuk industri makanan dan obat (Luo *et al.*, 2015). Wu *et al.* (2017) memperoleh senyawa fitosterol pada ekstrak *C. vulgaris* berupa ergosterol. Ergosterol memiliki boaktivitas sebagai antikanker, antikolestrol dan antiinflamasi (Luo *et al.*, 2015).



Gambar 2. Ergosterol (Luo *et al.*, 2015)

Saponin merupakan golongan senyawa yang memiliki berbagai aktivitas terkait dengan struktur dan jenis senyawa tertentu. Saponin terdiri dari unit aglikon yang terhubung dengan satu atau lebih banyak rantai karbohidrat (Savage, 2003).



Gambar 3. Struktur saponin dari kacang kedelai (Savage, 2003)

Selain pada *Chlorella* sp., saponin pada dasarnya banyak ditemukan pada kacang-kacangan, seperti buncis dan kacang kedelai (Fenwick dan Oakenfull, 1983). Berdasarkan penelitian mengenai saponin pada kacang-kacangan, saponin diketahui memiliki aktivitas dalam mengurangi tingkat kolesterol plasma dalam diri manusia (Savage, 2003; Murphy *et al.*, 2018). Beberapa studi menunjukkan bahwa saponin dapat mengurangi kolesterol melalui pembentukan dari kompleks yang tidak larut dengan kolesterol, sehingga mencegah penyerapannya dalam usus (Murphy *et al.*, 2018). Saponin pada tumbuhan juga memiliki aktivitas antimikroba. Beberapa senyawa steroid saponin yang diisolasi dari *Paullinia pinnata* diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antifungal (Lunga *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Pada limbah kotoran ayam broiler kering terdapat N sebanyak 0,8%, P sebanyak 0,041 % dan K sebanyak 112,58 mg/L. *Chlorella* sp dapat beradaptasi dan hidup dengan baik pada media limbah ternak ayam broiler dengan konsentrasi 20 gram/L. Pertumbuhan *Chlorella* sp. mencapai puncak pada hari ke-14. Ekstrak Metanol *Chlorella* sp. Mengandung steroid dan saponin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Bagian dari penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhar, A., A. Dharma, N. Nasir, dan Z. Chaidir. 2017. Integrasi bioremediasi limbah peternakan sapi dan kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris* dan *Chlorella pyrenoidosa*. *J Katalisator*. 2 (2):67-78.
- Bariyyah, S.K., A. G. Fasya, M. Abidin, dan A. Hanapi. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. *ALCHEMY*. 2(3): 150-204.
- Brennano, L., dan P. Owende. 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew Sustain Energy Rev*. 14:557-557.
- Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol*. 26 (3):126-131.
- Djaghoubi, A., M. D. Bouhoun, S. H. Said, A. Saggai, S. Sobti, dan B. H. Aissa. 2015. Growth and Nitrogen Removal Efficiency as Protein Content of *Spirulina* from Tertiary Municipal Wastewater in Ouargla (Algerian Bas-Sahara). *Energy Procedia*. 74:1402-1409.
- Farooq, W., Y. C. Lee, B. G. Ryu, B.H. Kim, H. S. Kim, Y. E. Choi, dan J. W. Yang. 2013. Two-stage cultivation of two *Chlorella* sp. strains by simultaneous treatment of brewery wastewater and maximizing lipid productivity. *Bioresour Technol*. 132: 230-238.
- Fasya, A. G., U. Khamidah, S. Amaliyah S, S. Khairul, dan Romaidi. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Pada Setiap Fase Pertumbuhan. *Alchemy*. 2(3):162-169.
- Fenwick, D. E., dan D. Oakenfull. 1983. Saponin content of food plants and some prepared foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 34(2): 186-191.
- Fithriani, D., S. Amini, S. Melanie, dan R. Susilowati. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., dan *Nannochloropsis* sp. *JPB Kelautan dan Perikanan*. 10(2): 101-109.
- Guedes, A. C., H. M. Amaro, dan F. X. Malcata. 2011. Microalgae as sources of carotenoids. *Mar Drugs*. 9:625-644.
- Guedes, A. C., M. S. Gião, R. Seabra, et al. 2013. Evaluation of the antioxidant activity of cell extracts from microalgae. *Mar Drugs*. 11:1256-1270.
- Hamawi, M. 2015. Uji Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp. Sebagai Antimikroba Patogen Tanaman *Pseudomonas solanacearum* Secara In Vitro. *Gontor AGROTECH Sci J*. 2(1):19.

- Harborne, J. B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hariatik. 2014. Perbandingan Unsur NPK pada Pupuk Organik Kotoran Sapi dan Kotoran Ayam dengan Pemiakan Mikro Organisme Lokal (MOL)". *Conference paper*
- Li, Y., Y. F. Chen, P. Chen, M. Min, W. Zhou, B. Martinez, J. Zhu, dan R. Ruan. 2011. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresour Technol.* 102: 5138-5144.
- Lingga, P.1999. *Petunjuk Penggunaan Pupuk*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Luo, X., P. Su, dan W. Zhang. 2015. Advances in Microalgae-Derived Phytosterols for Functional Food and Pharmaceutical Applications. *Marine Drugs.* 13(7): 4231-4254.
- Mahdi, M. Z., Y. N. Titisari, dan Hadiyanto. 2012. Evaluasi Pertumbuhan Mikroalga dalam medium POME: Variasi Jenis Mikroalga, Medium, dan Waktu Penambahan Nutrient. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri.* 1(1): 284-291.
- Manalu, S. 2010. Karakterisasi Pertumbuhan Mikroalga Dan Eliminasi Nutrien Dari Limbah Cair Peternakan Dengan Sistem Semi Kontinu. Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Murphy, K. J., I. Marques-Lopes, dan A. Sánchez-Tainta. 2018. The Prevention of Cardiovascular Disease Through the Mediterranean Diet. *Cereals and Legumes.* 111-132.
- Paes, C. R. P. S., G. R. Faria, N. A. B. Tinoco, D. J. F. A. Castro, E. Barbarino, dan S. O. Lourenco. 2016. Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 44(2): 275-292.
- Pancapalaga, W. 2011. Pengaruh Rasio Penggunaan Limbah Ternak Dan Hijauan Terhadap Kualitas Pupuk Cair. *GAMMA.* 7 (1): 61-58.
- Pane, G., G. Cacciola, E. Giacco, G. L. Mariottini, dan E. Coppo. 2015. Assessment of the antimicrobial activity of algae extracts on bacteria responsible of external otitis. *Mar Drugs.*
- Samarakoon, K. W., J. Y. Ko, M. M. R. Shah, J. H. Lee, J. B. Lee, dan Y. J. Jeon. 2013. In vitro studies of anti-inflammatory and anticancer activities of organic solvent extracts from cultured marine microalgae. *Algae.* 28(1):111-119.
- Sathasivam, R., R. Radhakrishnan, A. Hashem, dan E. F. Abd_Allah. 2019. Microalgae Metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 26: 709-722.
- Susanty, D. 2017. Isolasi dan Analisis Asam Lemak *Scenedesmus quadricauda* yang Diisolasi dari Air Kolam. *Jurnal Sains Natural.* 7 (1): 8-22.
- Sheih, I. C., T. J. Fang, T. K. Wu, P. H. Lin. 2010. Anticancer and antioxidant activities of the peptide fraction from algae protein waste. *J Agric Food Chem.* 58:1202-1207.

- Wang, J., W. Zhou, H. Chen, J. Zhan, C. He, dan Q. Wang. 2019. Ammonium Nitrogen Tolerant *Chlorella* Strain Screening and Its Damaging Effects on Photosynthesis. *Front. Microbiol.* 9:1-13.
- Wu, J., C. Liu, dan Y. Lu. 2017. Preparative separation of phytosterol analogues from green alga *Chlorella vulgaris* using recycling counter-current chromatography. *Journal of Separation Science.* 40(11): 2326–2334.
- Zhao, B. dan Y. Su. 2014. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 31: 121-132.