

## Pengaruh Suhu Pemanasan terhadap Karakteristik Garam Fungsional dari Rumput Laut Cokelat (*Sargassum aquifolium*)

### *The Effect of Heating Temperature on Charactersitics of Functional Salt from Brown Seaweed (Sargassum aquifolium)*

Deni Saputra Silaban, Mery Sukmiwati, dan Andarini Diharmi\*

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Riau, Kampus Bina Widya Km 12.5 Simpang Baru, Pekanbaru, 28293, Indonesia

\*Korespondensi penulis : andarini.diharmi@lecturer.unri.ac.id

#### ABSTRAK

*Sargassum aquifolium* adalah rumput laut cokelat berpotensi sebagai bahan baku garam fungsional. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh suhu pemanasan berbeda terhadap karakteristik garam fungsional *S. aquifolium*. Metode yang digunakan adalah eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial. Perlakuan terdiri atas suhu pemanasan berbeda 25°C, 30°C, dan 35°C dengan 3 kali pengulangan. Parameter analisis terdiri atas rendemen, kadar natrium, kalium, NaCl, komponen bioaktif, dan aktivitas antioksidan. Rendemen garam *S. aquifolium* yang dihasilkan dengan proses diekstraksi pada suhu 25°C, 30°C, dan 35°C berturut-turut sebesar 3,73%; 5,93%; dan 8,01%. Kadar natrium dan kalium garam *S. aquifolium* pada pemanasan dengan suhu 25°C, 30°C dan 35°C berturut-turut adalah; 1,92 mg/g; 2,29 mg/g dan 2,55 mg/g (Na), dan 39,18 mg/g; 42,64 mg/g dan 46,00 mg/g (K). Kadar NaCl yang dihasilkan dengan suhu pemanasan (25, 30, dan 25°C) sebesar 13,43%; 10,37% dan 7,95%. Senyawa bioaktif garam *S. aquifolium* terdiri atas fenolik, flavonoid, steroid dan saponin. Aktivitas antioksidan pada garam *S. aquifolium* dengan pemanasan suhu 25°C, 30°C dan 35°C diperoleh nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut 139,10 ppm, 147,34 ppm, dan 194.40 ppm. Perlakuan suhu pemanasan terbaik pada proses ekstraksi *S. aquifolium* adalah 35°C, garam yang dihasilkan memiliki karakteristik rendemen 8,01%, kadar natrium 2,55 mg/g, kalium 46,00 mg/g, NaCl 7,95%. Senyawa bioaktif yang diperoleh terdiri dari fenolik, flavonoid, steroid, dan saponin. Aktivitas antioksidan garam *S. aquifolium* dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 194,40 ppm.

**Kata Kunci:** antioksidan, garam fungsional, NaCl, natrium, kalium, *Sargassum aquifolium*

#### ABSTRACT

*Sargassum aquifolium* is a brown seaweed that has potential as a raw material for functional salt. This research aimed to determine the effect of different heating temperatures on the functional salt characteristics of *S. aquifolium*. The method used was an experiment using a non-factorial Completely Randomized Design (CRD). The treatment consisted of different heating temperatures of 25°C, 30°C, and 35°C with 3 repetitions. The analysis parameters consist of yield, content of sodium, potassium, NaCl, bioactive compound, and antioxidant activity. The yield of *S. aquifolium* salt produced by the extraction process at temperatures of 25°C, 30°C, and 35°C was 3.73%; 5.93%; and 8.01%. The sodium and potassium content of *S. aquifolium* salt when heated to a temperature of 25°C, 30°C, and 35°C were; 1.92 mg/g; 2.29 mg/g, and 2.55 mg/g (Na) and 39.18 mg/g; 42.64 mg/g and 46.00 mg/g (K). The NaCl content produced by heating temperatures (25, 30, and 25C) was 13.43%; 10.37%, and 7.95%. The bioactive compounds of *S. aquifolium* salt consist of phenolics, flavonoids, steroids, and saponins. The antioxidant activity of *S. aquifolium* salt by heating at 25°C, 30°C, and 35°C obtained IC<sub>50</sub> values of 139.10 ppm, 147.34 ppm, and 194.40 ppm respectively. The best heating temperature treatment in the *S. aquifolium* extraction process was 35°C. The resulting salt has a yield characteristic of 8.01%, sodium content 2.55 mg/g, potassium 46.00 mg/g, and NaCl 7.95%. The bioactive compounds are phenolics, flavonoids, steroids, and saponins. The antioxidant activity of *S. aquifolium* salt has an IC<sub>50</sub> value of 194.40 ppm.

**Keywords:** antioxidant, functional salt, sodium, NaCl, potassium, *Sargassum aquifolium*

## PENDAHULUAN

Rumput laut adalah tumbuhan air atau komoditas laut yang ada di Indonesia, data ekspor pada tahun 2021 mencapai 195,574 ton (KKP, 2022). Total produksi rumput laut tahun 2021 mencapai 2,321,408 ton (KKP, 2022). Rumput laut salah satu bahan pangan sebagai sumber vitamin larut air dan vitamin larut lemak (Skrovankova, 2011). Rumput laut merupakan tumbuhan air berklorofil dengan mekanisme fotosintesis seperti tanaman terestrial, namun memiliki perbedaan dari segi strukturalnya (Gnanavel et al., 2019).

Rumput laut memiliki komposisi kimia terdiri atas protein, lemak, karbohidrat, dan mineral (Manteu et al., 2018). Salah satu jenis rumput laut adalah *Sargassum* sp. telah dijadikan sebagai sediaan bahan baku garam fungsional dalam pencegahan penyakit hipertensi (Nurjanah et al., 2021), bahan tekstil, obat-obatan, kosmetik (Dolorosa et al., 2017) dan antioksidan karena memiliki kandungan komponen bioaktif (fukosantin, fenolik, dan tannin), protein, vit-C, dan asam lemak (Kadi, 2005).

Salah satu jenis rumput laut cokelat adalah *Sargassum aquifolium* yang pemanfaatannya sudah dilakukan sebagai obat antikanker karena memiliki kandungan fukoidan (Lee et al., 2022). Ekstrak rumput laut *S. aquifolium* memiliki potensi sebagai suplemen kardioprotektif dalam memperbaiki kardiotoxikitas (Samir et al., 2023). Pemanfaatan *S. aquifolium* belum maksimal sebagai bahan pangan.

*S. aquifolium* memiliki banyak manfaat bagi manusia, memiliki kandungan gizi yang penting untuk dikonsumsi manusia. Komposisi kimia *S. aquifolium* yang terdiri atas kadar abu 30,19%, lemak 3,86%, air 6,74%, karbohidrat 32,29%, serat 10,03%, dan protein 16,89% (Arguelles & Sapin, 2021). *S. aquifolium* mengandung komponen bioaktif diantaranya flavonoid dan fenolik memiliki kemampuan dalam mencegah aktivitas ACE (*Angiotensin Converting Enzyme*) (Nagappan et al., 2017). ACE adalah zink terglukolisasi dipeptil karboksipeptidase yang mengatur tekanan darah dan keseimbangan elektrolit melalui system renin-angiotensis-aldosteron serta salah satu faktor yang menyebabkan hipertensi (Guerrero et al., 2012).

Hipertensi adalah situasi dimana kerja tekanan darah pada pembuluh darah meningkat kronis sehingga kerja jantung lebih ekstrim memompa darah dalam memenuhi kebutuhan oksigen dan kerusakan fungsi jantung dan ginjal. Menurut

Kemenkes (2013) Hipertensi disebabkan karena mengkonsumsi makanan yang mengandung natrium yang berlebih seperti garam dapur.

Garam adalah salah satu bahan tambahan pangan yang mengandung natrium berupa NaCl minimal 94% (BSN, 2016). Badan kesehatan dunia menganjurkan untuk mengendalikan dalam konsumsi garam komersial bagi para pengidap hipertensi, karena jika mengkonsumsi garam secara berulang akan menimbulkan potensi hipertensi (WHO, 2012). Konsumsi garam kurang dari 100 mEq/L (2,4 garam natrium) sehari dapat menurunkan tekanan darah sistolik 2 sampai 8 mmHg (Alberat et al., 2014)

Hubungan antara membatasi konsumsi garam dapur maupun garam fungsional berkaitan dengan upaya untuk mengendalikan asupan natrium (komponen utama garam) dalam diet dengan cara yang sehat. Salah satu upaya pengendaliannya asupan natrium dengan garam fungsional untuk pencegahan penyakit hipertensi tersebut. Garam fungsional adalah garam yang memiliki bentuk padatan atau cairan dan beriodium dengan NaCl yang dimiliki kadarnya <60% (PERMENPERIN, 2014). Garam fungsional merupakan salah satu alternatif garam bagi penderita hipertensi (Lipinwati, 2017). Menurut WHO (2012), perbandingan kadar natrium dan kalium pada garam fungsional adalah 0,3-1 atau kandungan kalium lebih tinggi dari kandungan natrium (Venugopal, 2010).

Penelitian garam fungsional dari rumput laut jenis *S. polycystum* telah dilakukan. Hasil penelitian Diachanty (2018), menunjukkan dengan perlakuan suhu (40 dan 50°C) dan waktu ekstraksi 10 dan 30 menit) dihasilkan garam memiliki karakteristik rendemen 28%, natrium 47.13%, kalium 68.65%, NaCl 33.87% dan aktivitas antioksidannya 77 mg/L. Berdasarkan penelitian tersebut maka peneliti melakukan riset pembuatan garam rumput laut dari *Sargassum aquifolium* dengan suhu pemanasan yang lebih rendah yaitu; 25°C, 30°C, dan 35°C dengan waktu pemanasan selama 10 menit. Riset yang berkaitan dengan garam rumput laut dengan bahan baku *S. aquifolium* sebagai garam fungsional belum dilaporkan. Berdasarkan atas penelitian sebelumnya maka dilakukan penelitian untuk menentukan karakteristik garam rumput laut dengan suhu pemanasan yang berbeda untuk mendapatkan garam fungsional. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik garam fungsional (rendemen, kadar natrium, kalium, rasio natrium dan kalsium, dan aktivitas antioksidan) dari *S. aquifolium* diekstrak dengan suhu berbeda.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

*S. aquifolium* adalah bahan baku utama dalam penelitian ini yang berasal Kabupaten Gunung Kidul Yogyakarta yang tumbuh di pesisir sepanjang Pantai Selatan. Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, indikator fenolftalein, NaOH, K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> dan AgNO<sub>3</sub>, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCL, HNO<sub>3</sub>, zat kimia lainnya. Alat yang digunakan adalah, *nylon mesh* 500, kertas saring *Whatman* 42, oven (Memmert), labu ukur, *waterbath* (Memmert), erlenmeyer, *hot plate*, ektrofometer (AAS) (Savanta Flame Graphite Furnace Pal 3000, GBC, Australia), dan peralatan lainnya.

### Metode

Metode eksperimen yang dilakukan dalam penelitian ini berupa serangkaian percobaan langsung dengan melakukan ekstraksi *S. aquifolium* dengan suhu pemanasan yang berbeda (25°C, 30°C, dan 35°C) dan waktu ekstraksi 10 menit untuk mendapatkan garam. Rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap non factorial, perlakuan yang diberikan suhu pemanasan yang berbeda, dan pengulangan sebanyak 3 kali. Parameter analisis rendemen, NaCl, natrium dan kalium, identifikasi komponen bioaktif secara kualitatif, dan aktivitas antioksidan pada garam *S. aquifolium*. Perhitungan yang digunakan adalah menurut Steel dan Torrie (1993) yaitu sebagai berikut:

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

Dimana:

Y<sub>ij</sub> = hasil pengamatan perlakuan ke-1 ulangan ke j

μ = rerataan (mean)

τ<sub>i</sub> = pengaruh perlakuan ke-i

∑<sub>j</sub> = galat perlakuan ke-j

i = perlakuan 1, 2, 3

j = ulangan 1, 2, 3

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan, tahap pertama preparasi bahan baku dan tahap kedua adalah pembuatan garam rumput laut. Proses preparasi di laboratorium dimulai dengan mencuci rumput laut menggunakan air mengalir untuk membersihkan sisa pasir dan kotoran. Rumput laut yang telah bersih tersebut ditiriskan untuk mengurangi jumlah air pada rumput laut kemudian

dikeringkan dengan diangin-anginkan pada suhu ruang (20-25°C) selama 72 jam pada suhu ruang. Rumput laut yang telah kering dipotong dengan ukuran yang kecil untuk memudahkan proses penepungan menggunakan blender. Rumput laut yang telah jadi bubuk dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh. Tahapan berikutnya proses pembuatan tepung rumput laut menjadi garam

Pembuatan garam rumput laut *S. aquifolium* dilakukan berdasarkan penelitian yang telah menggunakan aquades dengan perbandingan 1:10. Larutan tersebut dilakukan penyaringan dan diambil filtratnya. Filtrat dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 25°C, 30°C, dan 35°C selama 10 menit. Filtrat yang telah dipanaskan dilakukan penyaringan menggunakan *nylon mesh* 500 (penyaringan 1) dan penyaringan kedua dengan kertas saring (*Whatman* No 42). Filtrat yang diperoleh dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 60°C hingga kering selama 72 jam. Garam yang dihasilkan dihaluskan dengan cara digerus di dalam lumpang.

### Parameter Analisis

#### Rendemen

Rendemen garam rumput laut dihitung mengacu (AOAC 2005), dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat akhir produk (g)}}{\text{berat awal bahan baku (g)}} \times 100$$

#### Kadar air (AOAC, 2005)

Cawan porselin dikeringkan didalam oven pada suhu 102-105°C selama 1 jam. Setelah 1 jam dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit dan ditimbang (A g). Garam rumput laut ditimbang ±3-4g dan ditempatkan dalam cawan porselen (B g) dan dimasukkan kedalam oven suhu 102-105°C selama ±6 jam. Pendinginan dilakukan selama 30 menit, dengan menggunakan desikator. Lalu dilakukan penimbangan beberapa kali sampai beratnya konstan (C g). Persamaan untuk menentukan kadar persamaan:

$$\text{Kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Dimana:

A : Berat cawan kosong (g)

B : Berat cawan yang diisi dengan sampel (g)

C : Berat cawan dengan sampel yang sudah dikeringkan (g)

### Kadar NaCl (SNI 3556:2016; BSN, 2016)

Analisis kadar garam *S. aquifolium* mengikuti standar SNI (3556:2016). Dalam proses ini, 5 g garam rumput laut *S. aquifolium* dimasukkan ke dalam labu. Larutan garam disaring dengan kertas saring. Filtrat dan kertas saring dicuci dengan cara disemprot akuades. Filtrat ditambahkan dengan beberapa tetes  $H_2SO_4$  1 N hingga larutan menunjukkan reaksi asam dengan indikator fenolfalein. Larutan tersebut dinetralkan dengan NaOH 4N dan dencerkan dengan aquades sampai volume 100mL. Kemudian kedalam larutan tersebut ditambahkan 1 mL larutan  $K_2CrO_5$  5% dan dititrasikan dengan larutan  $AgNO_3$  0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah bata. Kadar NaCl dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Kadar NaCl (\%)} = \frac{V \times N \times fp \times 58,5}{w} \times 100 \%$$

Dimana:

V = volume  $AgNO_3$  yang diperlukan pada titrasi (mL)

N = normalitas  $AgNO_3$  (N)

Fp = faktor pengencer

58.5 = bobot molekul NaCl

W = bobot contoh uji (mg)

### Kadar natrium dan kalium (AOAC, 2005)

Garam ditimbang sebanyak  $\pm 10$  g dilarutkan dengan  $HNO_3$  5 mL. Larutan garam didiamkan selama 1 jam di ruang asam pada suhu ruang. Kemudian dipanaskan pada suhu  $120^\circ C$  selama 4 jam, didiamkan kembali selama 24 jam. Setelah 24 jam diambil 0,4 mL larutan ditambahkan  $H_2SO_4$  dan dipanaskan kembali menggunakan *hot plate* selama 1 jam, saat pemanasan ditambahkan dengan larutan campuran (2:1) HCL dan  $HNO_3$  sebanyak 2-3 tetes. Pemanasan dilanjutkan sampai terjadi perubahan warna dari coklat menjadi kuning tua, dan menjadi kuning muda. Setelah terjadi perubahan warna, pemanasan dilanjutkan selama 10-15 menit. Setelah pemanasan larutan didinginkan dan dipindahkan kemudian ditambahkan dengan dengan 0,6 mL HCL dan 2 mL aquades. Larutan dipanaskan kembali supaya larut selama 15 menit. Larutan hasil pengabuan basah kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL ditambahkan dengan air demineralisasi. Jika terbentuk endapan, dilakukan penyaringan dengan kertas saring *Whatman* no. 42. larutan standar, blanko, dan contoh dimasukkan ke dalam *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) dengan panjang gelombang yang sesuai dengan parameter masing-masing mineral yang

diuji. Panjang gelombang yang digunakan adalah 589 nm untuk natrium dan 766.5 nm untuk kalium. Tinggi puncak dari standar, blanko, dan contoh diukur menggunakan AAS. Untuk menghitung kadar mineral digunakan persamaan:

$$\text{Kadar mineral (mg/g)} = \frac{P \times V \times C}{\text{Berat Sampel (g)}}$$

Dimana:

FP = Factor pengenceran

P = 1

V = Volume (L)

C = Hasil Pembacaan AAS (mg/L)

### Analisis Fitokimia (Harborne, 1996)

#### Alkaloid

50 mg garam rumput laut dilarutkan dengan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan  $H_2SO_4$  pekat 3-5 tetes dan dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian atas diambil ditambahkan dengan pereaksi Mayer 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer. Jika terdapat endapan menunjukkan adanya alkaloid. Diambil kembali lapisan atas dan ditambah dengan pereaksi 4-5 Dragendroff jika terbentuk endapan berwarna merah jingga positif alkaloid.

#### Flavonoid

Garam rumput laut sebanyak 50 mg dilarutkan di dalam akuades panas, dididihkan selama 5 menit dan dilakukan penyaringan. Diambil 5 mL ditambahkan dengan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCL pekat, selanjutnya dilakukan pengadukan. Jika terbentuk warna merah, kuning, atau jingga menunjukkan adanya flavonoid.

#### Steroid dan terpenoid

Garam rumput laut sebanyak 50 mg diteteskan dengan  $CH_3COOH$  pekat sebanyak 10 tetes dan  $H_2SO_4$  pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Hasil positif steroid dihasilkan jika terbentuk warna biru atau hijau, dan warna merah atau ungu untuk terpenoid.

#### Saponin

50 g garam rumput laut dilarutkan di dalam 10 mL akuades sambil dikocok selama 1 menit, dan tambahkan HCL 1 N 2 tetes. Jika terbentuk busa stabil selama  $\pm 7$  menit, ekstrak mengandung saponin

## Fenolik

Garam rumput laut sebanyak 50 mg diberikan  $FeCl_3$  1%. 10 tetes Jika terbentuk warna warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat menunjukkan sampel mengandung fenolik.

## Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan menggunakan metode (DPPH 1,1-Diphenyl-2-picryl Hydrazil) (Zhang et al. 2006). Analisis ini terdiri atas tahapan, yaitu garam rumput laut ditimbang 30 mg yang akan dilarutkan dalam 30 mL metanol, sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/mL. Metanol ditambahkan untuk melakukan pengenceran agar diperoleh sampel yang konsentrasi (1000, 500, 250, 125, 62, dan 5 ppm). Aktivitas antioksidan ditentukan dengan cara dipipet larutan sampel sebanyak 4.5 mL dengan pipet mikro dimasukkan dalam labu takar ukuran 25 mL, tambahkan 0,5 mL larutan DPPH 100 ppm dan dihomegenkan kemudian disimpan di ruang selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Asam askorbat digunakan sebagai control negatif 1 mg/mL (1000 ppm) dibuat dengan cara yang sama. Prinsip metode DPPH berdasarkan adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal, yang ditandai dengan perubahan senyawa non radikal yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (radikal bebas) (Setiawan, 2018). Aktivitas antioksidan ditentukan dengan besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Dimana:

$A_{\text{kontrol}}$  = Absorbansi tidak mengandung sampel

$A_{\text{sampel}}$  = Absorbansi sampel

Persentase inhibisi dan nilai konsentrasi sampel ditentukan pada masing-masing sumbu x dan y dengan persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear dalam bentuk persamaan  $y = a + bx$ . Persamaan tersebut digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  (*inhibition concentration 50%*) pada masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x diperoleh sebagai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  dinyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%.

## Analisis Data

Data yang diperoleh pada hasil penelitian ditabulasikan dalam bentuk tabel sebelum data dianalisis, dan dinormalitaskan. Setelah data yang dihasilkan sebarannya normal, dilanjutkan dengan analisis variansi (ANOVA) yaitu pengaruh pemanasan terhadap karakteristik garam (kadar NaCl, kadar K, Na, dan aktivitas antioksidan).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Deskripsi *S. Aquifolium*

Spesies Rumput laut telah dilakukan identifikasi secara morfologi di laboratorium oseanografi. Karakteristik *S. aquifolium* dicirikan berwarna coklat kekuningan, thallus bercabang berbentuk lembaran seperti daun bergelombang, ujung runcing, permukaan licin dan agak kaku. Thalus *S. aquifolium* mencapai 1 m, udus terdapat bulat-bulatan menyerupai buah, panjangnya antara 25 sampai 30 cm dan tumbuh pada substrat batu di daerah rata-rata terumbu. (Gambar 1).

### Rendemen

Tabel 1, menunjukkan bahwa rendemen garam yang dihasilkan semakin tinggi dengan suhu pemanasan yang semakin meningkat. Sesuai dengan hasil penelitian Magnusson et al. (2016) menyatakan bahwa waktu pemanasan yang lebih



Gambar 1. *Sargassum aquifolium*

Picture 1. *Sargassum aquifolium*

Tabel 1. Karakteristik garam Fungsional *S. aquifolium*Table 1. Characteristic of functional salt of *S. aquifolium*

Suhu Pemanasan/ Heating Temperature (°C)	Rendemen/ Yield (%)	Natrium/ Sodium (mg/g)	Kalium/ Potassium (mg/g)	NaCl (%)	IC <sub>50</sub> (ppm)
25	3.73±0.40 <sup>a</sup>	1.92±0.0088 <sup>a</sup>	39.18±0.99 <sup>a</sup>	13.43±0.44 <sup>c</sup>	139.10±0.45 <sup>a</sup>
30	5.93±0.39 <sup>b</sup>	2.29±0.0080 <sup>b</sup>	42.64±0.96 <sup>b</sup>	10.37±0.45 <sup>b</sup>	147.34±0.88 <sup>b</sup>
35	8.01±0.32 <sup>c</sup>	2.55±0.0088 <sup>c</sup>	46.00±0.40 <sup>c</sup>	7.95±0.46 <sup>a</sup>	194.40±0.90 <sup>c</sup>

Keterangan/Note: Notasi Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai berbeda nyata pada taraf uji  $p < 0,05$ /Notations of numbers followed by different letters in the same column shows significantly different values at  $p < 0.05$

lama dan suhu yang lebih hangat (25°C, 40°C, 55°C selama 10 menit) secara umum dapat menghasilkan rendemen garam yang lebih tinggi, namun untuk penerapan secara industri, waktu pemanasan yang lebih singkat dan dengan suhu yang lebih rendah lebih diharapkan karena dapat menekan biaya produksi. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa rendemen dipengaruhi oleh perlakuan suhu yang diberikan pada ekstraksi pembuatan garam. Semua perlakuan suhu berpengaruh terhadap rendemen dan dilakukan uji lanjut untuk menentukan perbedaan perlakuan yang diberikan. Perlakuan suhu 25, 30, dan 35°C, memberikan perbedaan yang nyata pada taraf  $p < 0,05$  (Table 1).

Nilai rendemen yang semakin tinggi disebabkan karena pemanasan sehingga mempercepat proses pemecahan sel, memudahkan diperoleh ekstrak (Priyanto, 2019). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Nomleni et al. (2022) hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pembuatan garam fungsional dari *Caulerpa lentilifera*, rendemen garam yang dihasilkan pada suhu 70°C sebesar 1,25%, suhu 90°C 1,35% dan suhu 120°C rendemen yang dihasilkan mencapai 1,64%. Menurut Diachanty (2018) garam fungsional dari *S. polycyctum* rendemen gram tertinggi pada perlakuan suhu 55°C adalah 31% dan suhu 40°C sebanyak 28%.

Rendahnya nilai rendemen yang diperoleh dalam penelitian ini disebabkan oleh kadar serat kasar yang ada pada rumput laut sehingga setelah dicampur dengan aquades larutan menjadi kental (karena *pectin* mengikat aquades) dan filtrat garam yang keluar tidak maksimal (Nurjanah et al. 2020).

#### Natrium dan Kalium

Kadar (Natrium dan Kalium) pada garam fungsional *S. aquifolium* mengalami peningkatan dengan tingginya suhu pemanasan (Tabel 1). Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan

suhu berbeda pada saat ekstraksi pembuatan garam fungsional berpengaruh terhadap kadar natrium dan kalsium. Penentuan perlakuan yang memberikan perbedaan terhadap kadar natrium dilakukan uji lanjut. Hasil uji lanjut diperoleh bahwa perlakuan suhu berbeda (25, 30 dan 35°C) memberikan perbedaan nyata pada taraf  $p < 0,05$  terhadap kadar kalsium dan natrium (Tabel 1). Hal yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurjanah et al. (2020), kadar natrium dan kalium pada garam rumput laut jenis *Turbinaria conoides* yaitu 61,64% hingga 62,75% yang dipengaruhi oleh waktu dan suhu pada saat proses ekstraksi pembuatan garam sehingga menyebabkan tingkat kelarutannya. Pemanasan merupakan salah satu faktor yang dapat mempercepat proses kelarutan dari mineral (Priyanto, 2019).

Kadar natrium dan kalium yang semakin meningkat dengan meningkatnya suhu pemanasan berkaitan dengan kelarutan mineral yaitu peningkatan suhu pemanasan dapat mengakibatkan kelarutan mineral dalam akuades (Nurjanah et al., 2020). Dalam hal ini, suhu yang lebih tinggi pada proses ekstraksi lebih efisien dari mineral-mineral seperti kalium dan natrium dari rumput laut. Suhu pemanasan diduga mempercepat proses kelarutan dari mineral, dengan suhu yang tinggi menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel pada rumput laut tidak sempurna (Priyatno, 2019). Kadar kalium pada garam *S. aquifolium* yang dihasilkan setiap perlakuan (39,18; 42,69; dan 46,00 ppm) lebih tinggi daripada kadar Natrium (13,93; 10,51; dan 7,95), Garam fungsional dari *S. aquifolium* memiliki kadar kalium yang tinggi daripada natrium kadar kalium telah memenuhi karakteristik yang baik sebagai garam fungsional dapat mencegah potensi hipertensi.

Hasil penelitian Nufus et al (2019) menyatakan bahwa salah satu syarat garam fungsional yang memiliki antihipertensi adalah yang memiliki

kandungan Kalium yang lebih tinggi dibandingkan dengan Natrium. Kadar natrium garam hasil penelitian ini pada suhu 25°C rendah. Rendahnya kadar natrium pada garam yang dihasilkan memenuhi syarat sebagai garam fungsional. Venughopal (2010) menyatakan bahwa proporsi K yang lebih tinggi pada garam sangat bermanfaat. Kalium berperan untuk meningkatkan pertumbuhan sel dan membantu menjaga tekanan darah tetap normal. Natrium digunakan untuk menjaga keseimbangan cairan osmotik dan asam basa.

### NaCl

Garam yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki nilai NaCl tertinggi pada suhu 25°C yaitu mencapai 13,43% sedangkan nilai NaCl terendah garam dengan suhu pemanasan 35°C yaitu 6,39%. Kadar NaCl pada garam *S. aquifolium* yang diperoleh dalam penelitian ini cukup rendah. Berdasarkan hasil analisis variansi menunjukkan bahwa kadar NaCl dipengaruhi oleh perlakuan suhu yang diberikan. Hasil uji lanjut pada taraf  $p < 0,05$  menunjukkan bahwa perlakuan suhu 25, 30, dan 35°C berbeda nyata (Tabel 1). Nurjanah et al. (2022) menyatakan bahwa kadar NaCl dari garam *S. polycystum* dengan suhu 40°C selama 10 menit mencapai 20,88%. Rendahnya kadar NaCl garam *S. aquifolium* yang diperoleh seiring tingginya suhu pemanasan disebabkan oleh penggunaan suhu yang berbeda sehingga menghasilkan kandungan NaCl yang cenderung menurun. Sama halnya dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nomleni et al. (2022) bahwa nilai NaCl garam *Caulerpa lentifera* mengalami penurunan seiring suhu pemanasan semakin tinggi yaitu pada suhu (120°C, 42,32%); (90°C, 47,20%); (70°C, 49,73%).

Kadar NaCl garam *S. aquifolium* yang dihasilkan rendah jika dibandingkan dengan garam konsumsi yaitu dengan standar NaCl minimum 94% (BSN 2016) dan memenuhi standar sebagai garam

fungsional yang sesuai dengan SNI 8208:2016 mengenai standar garam fungsional yaitu maksimum 60% yang berpotensi dalam mencegah terjadinya hipertensi (BSN, 2016). Nilai NaCl semakin rendah seiring dengan suhu yang semakin tinggi, sehingga dengan suhu 25°C akan lebih baik karena mendekati standar yaitu <60%.

### Komponen Bioaktif

Kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam *S. aquifolium* secara kualitatif ditentukan dengan dilakukan pengujian komponen bioaktif. Uji komponen bioaktif ini menggunakan sampel garam dengan suhu pemanasan yang berbeda yang telah didapat sebelumnya. Hasil uji komponen bioaktif disajikan pada Tabel 2.

Senyawa aktif yang bereperan untuk menurunkan tekanan darah adalah fenol. Yofananda dan Estiasih (2016) menyatakan terjadi peningkatan jumlah  $O_2$  meningkat pada keadaan stress oksidatif. Oksigen merupakan vasokonstriktor yang kuat dapat menyempitkan pembuluh darah menyebabkan tekanan darah meningkat. Peranan senyawa fenol memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah melalui regulasi ekspresi endotheial nitric oxide synthase (eNOS). Peningkatan produksi nitric oxide (NO) secara cepat berinteraksi dengan  $O_2$  untuk menetralkan dan menurunkan jumlah  $O_2$  sehingga bioavailabilitas NO dalam darah dapat menurunkan tekanan darah.

Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang memiliki potensi sebagai tabir surya karena adanya ikatan rangkap tunggal yang mampu menyerap sinar UV (Filho et al., 2016). Senyawa flavonoid yang terdapat pada garam *S. aquifolium* dapat memperbaiki fungsi endotel, menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler, memberikan perlindungan terhadap beberapa penyakit kronis, aktivitas antioksidan, antitumor, antibakteri, antivirus dan antiinflamasi

Tabel 2. Senyawa Bioaktif Garam *S. aquifolium*

Table 2. Bioactive Compounds of *S. aquifolium* Salt

Senyawa/ Compounds	Suhu/Temperature		
	25°C	30°C	35°C
Alkaloid/Alkaloids	-	-	-
Flavonoid/Flavonoids	+	+	+
Steroid/Steroids	+	+	+
Fenolik/Phenolic	+	+	+

Keterangan/Note: (+) terdeteksi ada; (-) terdeteksi tidak ada/(+) detected; (-) undetected

meskipun kekuatan flavonoid nya tergolong lemah (Fu et al. 2017; Irawati, 2015; Parubak, 2013).

Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel, yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik, yang menyebabkan penurunan integritas membran, perubahan morfologi membran sel, dan akhirnya pada penggetasan dan lisis membran sel. Hasil uji steroid menunjukkan reaksi positif jika terbentuk warna biru dan semua perlakuan menunjukkan reaksi tersebut.

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder tanaman dan memiliki fungsi fisiologis dan morfologis serta memiliki cincin aromatik yang membawa satu atau lebih gugus hidroksil. Komponen polifenol yang ditemukan pada ekstrak rumput laut memiliki potensi untuk menurunkan tekanan darah, antioksidan, aktivitas fotoprotektif dan anti-photo aging yang dapat digunakan untuk mencegah stress oksidatif dan kerusakan yang disebabkan oleh radiasi UV (Chojnacka et al., 2012; Yofananda & Estiasih, 2016).

#### Aktivitas Antioksidan

Hasil analisis aktivitas antioksidan pada garam fungsional *S. aquifolium* (Tabel 1) semakin tinggi suhu maka aktivitas antioksidan semakin menurun. Hasil penelitian Aisyah (2015) menjelaskan bahwa bahan pangan mengandung antioksidan secara alami, namun saat dimasak, kandungan antioksidannya dapat berkurang karena terjadi degradasi kimia dan fisik pada bahan tersebut. Hal ini juga diperkuat dengan penelitian Diachanty (2018) menyatakan peningkatan nilai  $IC_{50}$  dan aktivitas antioksidan garam yang dihasilkan mengalami penurunan karena suhu pemanasan pada pembuatan garam fungsional. Hasil penelitian pada garam rumput laut *P. minor* nilai  $IC_{50}$  sebesar 246 ppm dengan suhu 40°C. (Diachanty, 2018) penelitian Manteu (2019) menyatakan bahwa garam fungsional dari rumput laut *S. polycystum* memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 201 ppm.

Nilai antioksidan pada suhu pemanasan 25°C memiliki nilai  $IC_{50}$  yang semakin rendah karena suhu nya yang semakin rendah, sehingga mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki garam dengan suhu terendah tergolong sedang. Aktivitas antioksidan yang terdapat pada garam fungsional merupakan salah satu indikator terdapatnya komponen aktif pada garam fungsional. Adanya aktivitas antioksidan merupakan salah satu keunggulan garam fungsional dibandingkan

dengan garam konsumsi dan garam rendah natrium yang terdapat di pasaran. Komponen bioaktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan dalam mencegah potensi hipertensi adalah fenolik dan flavonoid.

#### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan yang terbaik untuk menghasilkan garam fungsional dari *S. aquifolium* suhu pemanasan 25°C dihasilkan garam dengan karakteristik rendemen (8.01%), natrium (2.55 mg/g), kalium (46.00 mg/g), NaCl (6.39%) dan aktivitas antioksidan (194.40 ppm). Penentuan suhu pemanasan terbaik yaitu 25°C didasari oleh hasil karakteristik berupa nilai natrium yang mendekati <60%, perbandingan antara nilai kalium dan natrium serta nilai aktivitas antioksidan. Dalam penelitian selanjutnya diperlukan analisis kadar mineral total (abu), metode lain untuk menghasilkan garam fungsional sehingga yang berpengaruh terhadap kadar kalium dan Natrium.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Rahmadhani, A., & Seulalae, A. V. (2022). Antioxidant Activity And Combination Characteristics Of Filtrates And *Sargassum polycystum* Seaweed Salt Residue. *Kuwait Journal of Science*. 49(3).
- Aisyah, Y., Rasdiansyah., & Muhaimin. (2015). Pengaruh Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Beberapa Jenis Antioksidan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. 6(2), 28-32.
- Alberta, L. T., Proboningsih, J., & Almahmuda, M. (2014). Peningkatan Perilaku Fungsional Rendah Garam Berbasis Theory of Planned Behavior (TPB) pada Lansia Penderita Hipertensi. *Jurnal Ners*. 9(2), 297-304.
- Arguelles, E.D.L.R., and Sapi, A.B. (2021). Chemical Composition and Bioactive Properties of *Sargassum aquifolium* (Turner) C. Agardh and its potential for Pharmaceutical Application. *Philippine Journal of Science*. 151(S1), 9 24.
- Association of Analytical Chemistry Publisher (AOAC). (2005). Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington Virginia USA: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2016). SNI-3556 2016 Tentang Garam Konsumsi Beriodium. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Chojnacka, K., Saeid, A., Witkowska, Z., & Tuhy, L. (2012). Biologically Active Compounds in Seaweed



- Extracts-the Prospects for The Application. *In The Open Conference Proceedings Journal* (Vol. 3, No. 1).
- Diachanty, S. (2018). Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum*, *Padina minor*, dan *Turbinaria conoides*) Sebagai Bahan Baku Sediaan Garam Fungsional. [Tesis]. Bogor (ID). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Dinas Kesehatan (DINKES). (2019). *Profil Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru Tahun 2019*. Jakarta (ID).
- Dolorosa, T. M., Nurjanah, Purwaningsih S., Effionora A., & Taufik, H. (2017). Kandungan senyawa bioaktif bubuk rumput laut *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3), 633-644.
- Filho, J.M.T.A., Sampalo, P.A., Pereira, V.E.C., Junior, R.G.O., Silva, F.S., Almeida, J.R.G.S., Rolim, L.A., Nunes, X.P., Araujo, E.C.C. (2016). Flavonoids as Photoprotective Agents: A Systematic Review. *J Med Plan Res*. 10(47): 848-864.
- Fu, M., Xu, Y., Chen, Y., Wu, J., Yu, Y., Zou, B., & Xiao, G. (2017). Evaluation of Bioactive Flavonoids and Antioxidant Activity in Pericarpium Citri Reticulatae (Citrus reticulata 'Chachi') during storage. *Food Chemistry*. 230, 649-656.
- Gnanavel, V., Roopan, S.M., Rajeshkumar, S. (2019). Aquaculture: An Overview of Chemical Ecology of Seaweeds (Food Species) in Natural Products. *Aquaculture*. 507:1-6.
- Guerrero, L., Castillo, J., Quinones, M., Garcia-Vallve, S., Arola, L., Pujadas, G., & Muguerza, B. (2012). Inhibition Of Angiotensin Converting Enzyme Activity by Flavonoids: Structure Activity Relationship Studies. *PLoS one*. 7(11), e49493.
- Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. ITB: Bandung
- Irawati, N.A.V. (2015). Antihypertensive Effects of Avocado Leaf Extract (*Persea Americana* mill). *J., Major*. 4(1): 44-48.
- Kadi, A. (2005). Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia. *Oseana*. 30(4): 19-29
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). (2022). Rilis Data Ekspor Budidaya Rumput Laut. Jakarta (ID): KKP.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). (2022). Rilis Data Kelautan dan Perikanan Triwulan I 2022. Jakarta (ID).
- Lee, Z. H., Lee, M. F., Chen, J. H., Tsou, M. H., Wu, Z. Y., Lee, C. Z., & Lin, H. M. (2022). Fucoidan with three functions extracted from *Sargassum aquifolium* integrated rice husk synthesis dual-imaging mesoporous silica nanoparticle. *Journal of Nanobiotechnology*. 20(1), 298.
- Lipinwati, L. (2017). Pengetahuan Pasien Hipertensi Terhadap Diet Rendah Garam Sebelum Dan Sesudah Diberikan Konsultasi Gizi Di Poli Gizi Rumah Sakit Raden Mattaher Tahun 2017. *JAMBI MEDICAL JOURNAL" Jurnal Kedokteran dan Kesehatan"*. 5(2).
- Magnusson, M., Carl, C., Mata, L., Nys, R., Paul, N.A. (2016). Seaweed Salt From Ulv: A Novel First Step In A Cascading Biorefinery Model. *Alga research*. 16(2016): 308 316.
- Manteu, S. H. (2019). Pemanfaatan Karbon Aktif Dalam Mereduksi Aroma Amis Pada Garam Fungsional Berbahan Baku Rumput Laut *Sargassum polycystum* dan *Padina minor*. [Disertasi]. Bogor. IPB University.
- Manteu, S. H., & Nurjanah, N. T. (2018). Karakteristik Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum* dan *Padina minor*) dari Perairan Pohuwato Provinsi Gorontalo. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(3), 396-405.
- Nagappan, H., Pee, P. P., Kee, S. H. Y., Ow, J. T., Yan, S. W., Chew, L. Y., & Kong, K. W. (2017). Malaysian Brown seaweeds *Sargassum siliquosum* and *Sargassum polycystum*: Low density lipoprotein (LDL) oxidation, angiotensin converting enzyme (ACE),  $\alpha$  amylase, and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities. *Food Research International*. 99, 950-958.
- Nomleni, E. R., Henggu, K. U., & Meiyasa, F. (2022). Ekstraksi Garam Dari Rumput Laut *Caulerpa Lentillifera* Dengan Kombinasi Perlakuan Agitasi dan Non Agitasi Pada Suhu Yang Berbeda. *Journal of Marine Research*. 11(4), 609-619.
- Nufus, C., Abdullah, A., & Nurjanah. (2019). Characteristics Of Green Seaweed Salt As Alternative Salt For Hypertensive Patients. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 278, No. 1, p. 012050). IOP Publishing.
- Nurjanah, A. A., Darusman, H. S., Diaresty, J. V. G., & Seulalae, A. V. (2021). The Antioxidant Activity Of Seaweed Salt From *Sargassum polycystum* in Sprague-Dawley male white rats. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 12(4), 2601-2609.
- Nurjanah, N., Abdullah, A., & Nufus, C. (2018). Karakteristik Sediaan Garam *Ulva lactuca* Dari Perairan Sekotong Nusa Tenggara Barat Bagi Pasien Hipertensi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1), 109-117.
- Nurjanah, N., Jacob, A. M., Bestari, E., & Seulalae, A. V. (2020). Karakteristik Bubur Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* dan *Turbinaria conoides* Sebagai Bahan Baku *Body Lotion*. *Jurnal Akuatek*. 1(2), 73-83.
- Parubak, A.S. (2013). Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana*, Gibbs). *Chem Prog*. 6(1):34-37.
- Parubak, A. S. (2019). Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana*. Gibbs). *Chemistry Progress*. 6(1).
- Patel, J. V., Tracey, I., Hughes, E. A., & Lip, G.Y. (2010). Omega-3 Polyunsaturated Acids And Cardiovascular Disease: Notable Ethnic Differences Or Unfulfilled Promise *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 8(10), 2095 2104.
- Peraturan Menteri Perindustrian (PERMENPERIN). (2014). Perubahan Atas Peraturan Menteri

- Perindustrian No 134/MIND/PER/10/2009 Tentang Peta Panduan (Road Map) Pengembangan Kluster Industri Garam.
- Priyanto, J. A. (2019). Karakteristik *Actinotrichia fragilis* Sebagai Bahan Baku Garam Rumput Laut.
- Samir, R., Hassan, E. A., Saber, A. A., Haneen, D. S., & Saleh, E. M. (2023). Seaweed *Sargassum aquifolium* extract ameliorates cardiotoxicity induced by doxorubicin in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 30(20), 58226-58242.
- Škrovánková, S. (2011). Seaweed Vitamins As Nutraceuticals. *Advances In Food And Nutrition Research*. 64, 357-369.
- Sampaio, P. A., Valenã, E. C., Silva, F. S., da Silva Almeida, J. R. G., Rolim, L. A., Nunes, X. P., & da Cruz Araãjo, E. C. (2016). Flavonoids As Photoprotective Agents: A Systematic Review. *Journal of Medicinal Plants Research*. 10(47), 848-864.
- Steel, R.G.D dan Torrie, J.H. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Terjemahan Bambang Sumantri. Gramedia. Jakarta.
- Yofananda, O., & Estiasih, T. (2016). Bioactive Compounds Potential in Local Tubers for Lowering Blood Glucose Levels: A Review. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1), 410-416.
- World Health Organization (WHO). (2012). Guideline: Sodium Intake for Adults and Children. World Health Organization, Geneva, Switzerland 2012.
- Venughopal, J.P. (2010). Omega-3 Polyunsaturated Acids and Cardiovascular Disease: Notable Ethnic Differences or Unfulfilled Promise. *Journal of Thrombosis Haemostasis*. 8(10): 1095-2104.
- Zhang, Q., Junzen, Z., Jingkai, S., Angelica, S., dan Dorothy, A. (2006). A Simple 96 Well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds. *Journal of Applied Phycology*. 18: 445-450.