

KOMPOSISI KIMIA MIKROALGA LAUT *Chaetoceros gracilis*

(Chemical Composition of Marine Microalgae *Chaetoceros gracilis*)

Iriani Setyaningsih, Desniar, Ely Ermayanti

Departemen Teknologi Hasil Perairan,

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

E-mail : isetyaningsih@apps.ipb.ac.id

Abstract

Many factors affect the growth and chemical composition of Chaetoceros gracilis, including media and cultivation conditions. Growth media used for cultivation of C. gracilis in this study was NPSi media. Cultivation of C. gracilis conducted outdoor. This study aimed to determine fatty acids profile and the chemical components of C. gracilis. Chaetoceros gracilis contained 25,56% SAFA, 34,77% MUFA, 39,55% PUFA. C. gracilis dry biomass contained of 27% water, 25% ash, 12,1%fat, 20,27% protein and 15.63% carbohydrate. Active components contained in the dry biomass were alkaloids, terpenoids, carbohydrates, reducing sugars, and amino acids. Calcium was the highest mineral contained in C. gracilis.

Key word: Chaetoceros gracilis, cultivation, chemical components

PENDAHULUAN

Chaetoceros gracilis merupakan salah satu biota perairan yang memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan. Saavedra dan Voltolina (2006) menyatakan bahwa *Chaetoceros* sp. yang dikultivasi menggunakan media f/2 dengan sumber cahaya lampu mempunyai kandungan protein 38,4%, lemak 15,6%, dan karbohidrat 12,3%. Pratiwi *et al.* (2009) juga menyebutkan bahwa *C. gracilis* yang ditumbuhkan

dalam media f/2 memiliki 1,53% SAFA, 30,82% MUFA, dan 25,56% PUFA.

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan komposisi kimia dari mikroalga, diantaranya media dan kondisi kultivasi. Media pertumbuhan yang biasa digunakan untuk kultivasi *C. gracilis* adalah media f/2 (Vega dan Saavedra 2009; Sutomo 2005). Salah satu kekurangan dari media f/2 adalah harganya yang mahal, namun mahal harganya. Hal ini dapat diatasi dengan menggantikan media f/2 dengan media lain yang harganya lebih terjangkau. Menurut Lopez-Elias *et al.* (2003) dan Lopez-Elias *et al.* (2005) diatom mungkin dapat dikultivasi di luar ruangan dan menggunakan media yang lebih murah, yaitu menggunakan pupuk yang telah dimodifikasi.

Kultivasi mikroalga biasanya dilakukan di dalam ruangan dengan suhu dan intensitas cahaya yang sudah diatur, namun kurang efektif jika ingin kultivasi dalam skala besar. Alternatifnya, melakukan kultivasi mikroalga di luar ruangan sehingga energi yang dibutuhkan lebih kecil. Informasi mengenai kandungan biokimia dari *C. gracilis* yang ditumbuhkan di luar ruangan menggunakan media pupuk masih sangat jarang ditemukan sehingga perlu dilakukan penelitian ini. Kultivasi di luar ruangan (outdoor) dapat mengurangi biaya penggunaan listrik, karena menggunakan sumber cahaya matahari. Informasi komponen kimiawi mikroalga ini sangat penting untuk pengembangan pakan maupun pangan.

Penelitian ini bertujuan menentukan kurva pertumbuhan *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media NPSi dan menentukan kandungan kimia dari *C. gracilis* yang meliputi: asam lemak, lemak, air, abu, protein, karbohidrat, mineral, dan kandungan fitokimia.

METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi Hasil Perairan 2 dan laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, serta beberapa laboratorium di lingkungan IPB.

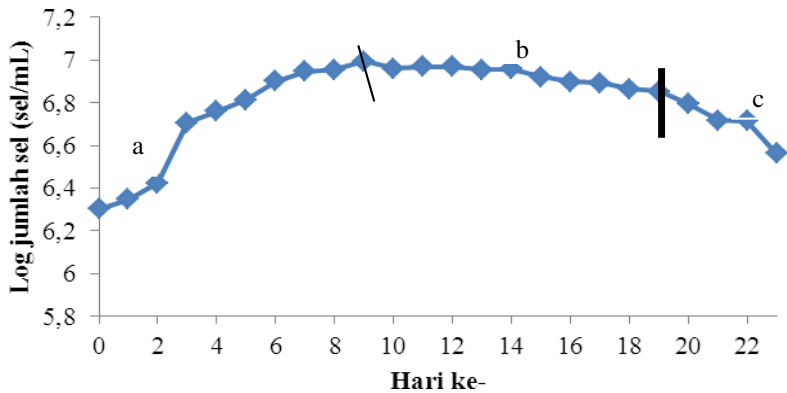
Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain, inokulum *C. gracilis* yang diperoleh dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Ancol, media NPSi, air laut, serta bahan-bahan untuk uji proksimat, uji fitokimia, uji mineral, dan uji asam lemak. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung kultur, aerator, sentrifuse, *freeze dryer*, haemasitometer, mikroskop, timbangan digital, AAS, GC, tanur, desikator, kondensator, tabung soxhlet, labu Kjeldahl, dan evaporator.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan *C. gracilis*

Kurva pertumbuhan *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media NPSi (Gambar 1) meliputi fase logaritmik, fase stasioner, dan fase kematian. Fase adaptasinya diduga tidak terjadi atau sangat singkat. Kepadatan sel pada hari pertama kultivasi yaitu sebesar $2,0 \times 10^6$ sel/L dan pada akhir fase logaritmik kepadatan sel sebesar $9,8 \times 10^6$ sel/L. Penambahan kepadatan sel ini juga dapat dilihat dari perubahan warna kultur. Kultur pada saat awal kultivasi masih berwarna coklat muda (cenderung bening), tetapi seiring bertambahnya umur kultur, warna kultur berubah menjadi lebih pekat (cokelat tua). Saat kultur mengalami fase kematian, warna kultur berubah menjadi bening kembali dan terdapat endapan biomasa di dasar wadah. Perubahan warna kultur dari coklat muda menjadi coklat tua disebabkan oleh pigmen yang terkandung dalam *C. gracilis*, yaitu karotenoid. Arinardi (1997) menyatakan bahwa *Chaetoceros* memiliki pigmen karoten.



Gambar 1 Kurva pertumbuhan *C. gracilis* (a: fase log; b: fase stasioner; c: fase kematian)

Chaetoceros gracilis yang dikultivasi di luar ruangan dengan media NPSi mengalami fase log pada hari ke-0 sampai ke-7, fase stasioner hari ke-8 sampai ke-19, dan fase kematian mulai hari ke-20. Fase log ditandai dengan meningkatnya laju pertumbuhan. Becker (1994) menyatakan pada fase logaritmik jumlah nutrisi masih banyak sehingga pertumbuhan cepat. Fase stasioner dapat didefinisikan sebagai konsentrasi biomassa maksimum yang dapat dicapai oleh alga dalam suatu sistem tertutup (kultur). Fase kematian dapat terjadi karena kondisi lingkungan yang kurang baik, umur kultur yang sudah lama dan terbatasnya suplai cahaya serta nutrisi, atau karena adanya infeksi dari mikroorganisme lain.

Profil Asam Lemak

C. gracilis yang dikultivasi di luar ruangan dengan menggunakan media pupuk NPSi mengandung asam lemak jenuh (SAFA) yaitu kaprat, laurat, miristat, pentadekanoat, palmitat, stearat dan heneikosanoat, asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) yaitu palmitoleat, cis-heptadekanoat, elaidat, dan oleat, serta asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) yaitu linoleat, γ -linolenat, arahkidonat, EPA, dan DHA. Labeau dan Robert (2003) dan Renaud *et al.* (1994) menyatakan bahwa

cadangan makanan dalam diatom paling besar disimpan dalam bentuk lemak, sehingga diatom dapat menjadi sumber asam lemak yang potensial, khususnya PUFA.

Chaetoceros gracilis yang dikultivasi di luar ruangan dengan menggunakan media pupuk NPSi mengandung 25,56% PUFA, 34,77% MUFA, dan 39,55% SAFA. Jumlah tersebut masih lebih rendah jika dibandingkan penelitian dari Pratiwi *et al.* (2009) yang menyebutkan bahwa *C. gracilis* yang dikultivasi pada suhu 16-19 °C mengandung 43,61% SAFA, 30,82% MUFA, dan 25,56% PUFA, perbedaan tersebut terjadi karena adanya perbedaan kondisi kultivasi. Menurut Pernet *et al.* (2003) dan Mansour *et al.* (2003), komposisi lemak dan asam lemak pada mikroalga bergantung pada intensitas cahaya, suhu, nutrisi atau media pertumbuhan, dan fase pertumbuhan. Pratiwi *et al.* (2009) menyebutkan suhu lingkungan yang rendah dapat meningkatkan pembentukan asam lemak tidak jenuh, hal ini merupakan respon untuk melindungi ketidakstabilan membran sel. Hasil analisis asam lemak pada *C. gracilis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil analisis asam lemak *C. gracilis* (% total asam lemak)

Jenis asam lemak		%	Jenis asam lemak		%	
SAFA	Asam kaprat (C8:0)	0,03	MUFA	Palmotoleat (C16:1)	23,28	
	Asam laurat (C12:0)	0,17		Asam cis-heptadekanoat (C17:1)	2,32	
	Asam miristat (C14:0)	11,79		Asam elaidat (C18:1n9t)	8,30	
	Asam pentadekanoat (C15:0)	0,48		Asam oleat (C18:1n9c)	0,87	
	Asam palmitat (C16:0)	11,84		Total	34,77	
	Asam stearat (C18:0)	0,99		PUFA	Asam linoleat (C18:2n6c)	0,92
	Asam heneikosanoat	0,26			Asam γ -linolenat	1,93

(C21:0)		(C18:3n6)	
Total	25,56	Asam arahkidonat	3,48
		(C20:4n6)	
		EPA	31,39
		DHA	1,83
	Total		39,55

Kandungan asam lemak jenuh (SAFA) terbesar pada *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan dengan menggunakan media pupuk NPSi adalah palmitat sebesar 11,79%. Pratiwi *et al.* (2009) menyebutkan bahwa asam lemak jenuh (SAFA) yang utama pada *C. gracilis* adalah asam palmitat (C16:0). Pembentukan asam palmitat berhubungan dengan penyimpanan cadangan energi, oleh sebab itu, asam palmitat selalu ditemukan di setiap fase pertumbuhan. Tonon *et al.* (2002) menyebutkan bahwa tingginya kandungan asam palmitat pada diatom lain, seperti *P. tricornutum* dan *T. pseudonana*, erat kaitannya dengan energi ekstra untuk pembelahan sel.

Persentase asam lemak tak jenuh tertinggi adalah EPA yaitu sebesar 31,39% dan terendah adalah asam oleat sebesar 0,87%. Viso dan Marty (1993) menyebutkan bahwa PUFA akan berperan dalam proses tumbuh-kembang otak atau kecerdasan, perkembangan indera penglihatan, dan sistem kekebalan tubuh bayi atau balita. Jenis PUFA yang paling terkenal adalah DHA dan EPA yang termasuk golongan omega-3.

Komposisi Kimia *C. gracilis*

Komposisi kimia *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media pupuk NPSi dapat dilihat pada Tabel 2. *Chaetoceros gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media pupuk NPSi memiliki kadar air sebesar 27% dan kadar abu sebesar 25%. Kandungan abu dalam mikroalga dapat disebabkan oleh perbedaan keadaan lingkungan saat kultivasi. Raghavan *et al.* (2008)

menyatakan bahwa komposisi kimia pada mikroalga sangat tergantung pada kondisi lingkungan dan fase pertumbuhan.

Tabel 2 Komposisi kimia *C. gracilis*

Komponen	Kandungan (%)	Kandungan (%)*
Air	27	
Abu	25	
Protein	20,27	45,88
Lemak	12,1	16,5
Karbohidrat	15,63	10,17

* Kultivasi di dalam ruangan yang dilengkapi AC (Setyaningsih 2010)

.Kadar protein *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media pupuk NPSi, yaitu 20,27%, lebih rendah dibandingkan penelitian Setyaningsih (2010), yaitu sebesar 45,88%. Perbedaan ini disebabkan kondisi kultivasi yang berbeda. Raghavan *et al.* (2008) menyatakan bahwa pada suhu kultivasi yang rendah, respirasi pada mikroalga akan meningkat sehingga semakin banyak makromolekul yang terbentuk.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa *C. gracilis* mengandung lemak sebesar 12,1%, nilai ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil pengujian kadar lemak yang dilakukan oleh Setyaningsih (2010) yaitu sebesar 16,5%. Perbedaan nilai kadar lemak ini diduga karena adanya perbedaan suhu selama kultivasi. Suhu selama kultivasi berlangsung berkisar antara 22-33,6 °C. Setyaningsih (2010) dalam penelitiannya menggunakan suhu ruangan sekitar 25-26 °C. Hasil penelitian Raghavan *et al.* (2008) juga menunjukkan bahwa pada suhu 20 sampai 25 °C kandungan lemak dan karbohidrat pada *C. calcitrans* lebih tinggi dibandingkan kandungan lemak pada suhu 30 °C.

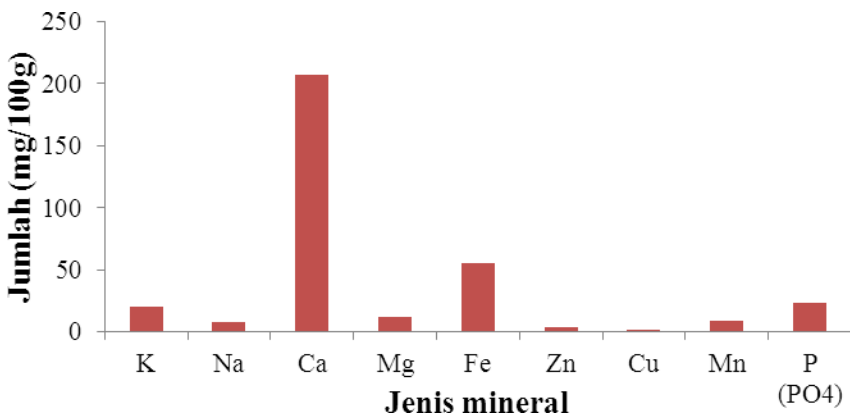
Kandungan karbohidrat yang terukur dari *C. gracilis* yang dikultivasi pada suhu fluktuatif sekitar 22 °C - 33,6 °C sebesar 15,63% lebih tinggi dibanding penelitian Setyaningsih (2010). Perbedaan ini

diduga karena metode penentuan karbohidrat yang dilakukan berbeda. Pada penelitian ini penentuan karbohidrat berdasarkan *by different*. Raghavan *et al.* (2008) menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat pada *Chaetoceros* sp. lebih tinggi jika dikultivasi pada antara suhu 25 °C dan 30 °C, dan akan rendah jumlahnya jika dikultivasi pada suhu yang lebih tinggi.

Mineral

Mineral dibutuhkan mikroalga untuk pertumbuhannya. Unsur C dibutuhkan dalam fotosintesis untuk pembentukan makromolekul. Unsur P dibutuhkan untuk biosintesis asam nukleat dan transfer energi. Sulfur juga diperlukan oleh semua sel karena merupakan bagian dari beberapa asam amino, vitamin dan sulfolipid (Becker 1994). Kandungan mineral pada biomassa *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media pupuk NPSi dapat dilihat pada Gambar 2.

Kandungan mineral terbesar pada penelitian ini adalah kalsium, yaitu sebesar 207 %. Mineral dibutuhkan tubuh sebagai penopang berjalannya fungsi fisiologis tubuh manusia. Mineral kalium dan natrium berperan sebagai pengontrol pH dan osmolaritas. Fosfor dan kalsium sebagai pembentuk tulang dan gigi, dan besi sebagai pembentuk sel darah merah (Lehninger 1982).



Gambar 2 Hasil pengujian total mineral pada *C. gracilis*.

Komponen Bioaktif

Komponen aktif yang terkandung dalam biomassa *C. gracilis* yaitu alkaloid, terpenoid, karbohidrat, gula pereduksi, dan asam amino. Komponen bioaktif merupakan kelompok senyawa fungsional yang terkandung dalam bahan pangan dan dapat memberikan pengaruh biologis (Kannan *et al.* 2009). Kandungan senyawa kimia aktif yang terdapat pada tanaman adalah alkaloida, flavonoida, terpenoida, steroida, tanin dan saponin yang dapat diketahui dengan uji fitokimia (Tarigan *et al.* 2008). Golongan flavonoid mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi (Salamah *et al.* 2008). Hasil uji fitokimia biomassa *C.gracilis* dapat dilihat pada Tabel 3.

Menurut Kutchan (1995), alkaloid digolongkan sebagai metabolit sekunder karena kelompok molekul ini merupakan substansi organik yang tidak bersifat vital bagi organisme yang menghasilkannya. Akan tetapi beberapa jenis alkaloid juga memiliki peran penting bagi organisme penghasilnya. Menurut Porto *et al.* (2009), alkaloid juga memiliki aktivitas antioksidan dan juga berperan sebagai pelindung dari radiasi sinar UV (UV-B dan UV-C) seperti yang ditemukan pada daun *Psychotria brachyceras*.

Tabel 3 Hasil uji fitokimia pada *C. gracilis*

Uji Fitokimia	Hasil	Standar warna
Alkaloid:		
a. Dragendorff	+	Endapan merah atau jingga
b. Meyer	+	Endapan putih kekuningan
c. Wagner	+	Endapan cokelat
Steroid/terpenoid	+	Perubahan dari merah menjadi biru/hijau
Flavonoid	-	Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau

Saponin	-	Terbentuk busa
Fenol Hidrokuinon	-	Warna hijau atau hijau biru
Molisch	+	Warna ungu antara 2 lapisan
Benedict	+	Warna hijau/kuning/endapan merah bata
Biuret	-	Warna ungu
Ninhidrin	+	Warna biru

Terpenoid merupakan senyawa alam yang terbentuk dengan proses biosintesis dan terdistribusi secara luas dalam dunia tumbuhan dan hewan. Terpenoid yang terdeteksi pada penelitian ini diduga termasuk kelas karotenoid. Terpenoid jenis ini juga diduga memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini didukung Paiva *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa karoten merupakan pigmen yang memiliki aktivitas antioksidan di samping pigmen klorofil.

Hasil positif terhadap gula pereduksi dan karbohidrat pada uji fitokimia ini didukung pula dengan hasil analisis proksimat terhadap kandungan karbohidrat. Hasil pengujian asam amino dengan menggunakan pereaksi Ninhidrin 0,10% menunjukkan bahwa *C. gracilis* positif mengandung asam amino, ditandai dengan terbentuknya warna biru. Hasil pengujian ini didukung oleh hasil penelitian dari Vega dan Saavedra (2009) mengenai kandungan asam amino pada *C. muelleri*. Hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa *C. muelleri* mengandung 11 asam amino esensial dan 6 asam amino non esensial.

KESIMPULAN

C. gracilis yang dikultivasi di luar ruangan menggunakan media NPSi mengalami fase log hari ke-0 sampai ke-7, fase stasioner hari ke-8 sampai ke-19, dan fase kematian mulai hari ke-20. Kandungan PUFA, MUFA, dan PUFA yang terkandung dalam *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan lebih rendah dibandingkan *C. gracilis* yang dikultivasi pada

suhu 16-19 °C. Kandungan protein dan lemak biomassa kering *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan lebih rendah dibandingkan *C. gracilis* yang dikultivasi di dalam ruangan. Biomassa *C. gracilis* mengandung alkaloid, terpenoid, karbohidrat, gula pereduksi, dan asam amino. Mineral tertinggi pada *C. gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan adalah kalsium.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Arinardi OH. 1997. Status pengetahuan plankton di Indonesia. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia* 30:63-95.
- Becker EW. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Britain: Cambridge University Press. 279 hlm
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, penerjemah. Terjemahan dari: *Phytochemical methods*. Bandung: ITB.
- Kannan A, Hettiarachchy N, Narayan S. 2009. Colon and breast anti-cancer effects of peptide hydrolysates derived from rice bran. *The Open Bioactive Coumpounds Journal* 2:17-20.
- Kutchan TM. 1995. Alkaloid biosynthesis: the basis for metabolic engineering of medical plants. *The Plant Cell* 7:1059-1070.
- Lebeau T, Robert JM. 2003. Diatom cultivation and biotechnology relevant products: Part II. Current and putative products. *Journal Applied Microbiology and Biotechnology* 60:624- 32.
- Lehninger AL. 1982. *Dasar-Dasar Bikimia Jilid 2*. Thenawidjaja M, penerjemah. Terjemahan dari: *Principles of biochemistry*. Jakarta: Erlangga. 386 hlm.

- Lopes-Elias JA, Voltolina D, Chavira-Ortega CO, Rodrigues-Rodrigues BB, Saenz-Gaxiola LM, Cordero-Esquivel D, Nieves M. 2003. Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican northwest. *Aquacultural Engineering* 29: 155-164.
- Lopez-Elias JA, Voltolina D, Enriques-Ocana F, Gallegos-Simental G. 2005. Indoor and outdoor mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a Mexican commercial hatchery. *Aquacultural Engineering* 33:181-191.
- Mansour MP, Volkman JK, Blackburn SI. 2003. The effect of growth phase on the lipid class, fatty acid and sterol composition in the marine dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. in batch culture. *Phycochemistry* 63: 145-153.
- Paiva, Robert, Sergio AR. 1999. β -carotene and other carotenoids as antioxidants. *Journal Nutrition* 18:426-433
- Pernet F, Tremblay R, Demers E, Roussy M. 2003. Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. *Journal Aquaculture* 221: 393-406
- Porto DD, Henriques AT, Fett-Neto AG. 2009. Bioactive alkaloids from South American *Psychotria* and related species. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2:29-36.
- Pratiwi AR, Syah D, Hardjito L, Panggabean LMG, Suhartono MT. 2009. Fatty acid synthesis by Indonesian marine diatom, *C. gracilis*. *HAYATI Journal of Biosciences* 16 (4): 151-156
- Raghavan G, Haridevi CK, Gopinathan CP. 2008. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Journal Compilation Aquaculture Research* 39: 1053-1058
- Renaud SM, Parry DL, Thinh LV. 1994. Microalgae for use in tropical aquaculture I: Gross chemical composition and fatty acids

composition of twelve species of microalgae from the Northern Territory, Australia. *Journal of Applied Phycology* 6: 337-345.

- Reitz LL, Smith WH, Plumlee MP. 1987. *A Simple Oxidation Procedure for Biological Materials*. West Lafayette: Animal Science Purdue University.
- Saavedra MDPS, Voltolina D. 2006. The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros* sp. grown with different light sources. *Journal Aquacultural Engineering* 35: 161-165
- Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 119-133.
- Setyaningsih I. 2010. Kultivasi dan Karakterisasi Komponen Aktif dan Nutrisi dari Mikroalga Laut *C. gracilis*. [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sutomo. 2005. Kultur tiga jenis mikroalga (*Tetraselmis* sp., *Chlorella* sp. dan *Chaetoceros gracilis*) dan pengaruh kepadatan awal terhadap pertumbuhan *C. gracilis* di laboratorium. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia* 37: 43-58.
- Tarigan JB, Zuhra CF, Sitohang H. 2008. Skrining fitokimia tumbuhan yang digunakan oleh pedagang jamu gendong untuk merawat kulit wajah di kecamatan Medan baru. *Jurnal Biologi Sumatera* 3(1): 1-6
- Tonon TD, Harvey, Larson TR, Graham IA. 2002. Long chain polyunsaturated fatty acid production to triacylglycerol in four microalgae. *Phytochemistry* 61: 15-24.
- Vega JMP, Saavedra MDPS. 2009. The biochemical composition of *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann Grown) with an

agricultural fertilizer. *World Aquaculture Society Journal* 40
(4): 556-560

Viso AC, Marty JC. 1993. Fatty acid from 28 marine microalgae. *Journal
Phytochemistry* 34(6): 1521-1533