



Pengaruh Aerasi dan Penambahan Nitrogen terhadap Laju Pertumbuhan *Nannochloropsis sp.*

Felicia Wiryadi, Judy Retti B. Witono

Program Studi Teknik Kimia, FTI, Universitas Katolik Parahyangan
Jalan Ciumbuleuit 94 – Bandung, Indonesia

*E-mail : feliciawiryadi@gmail.com , judyretti@unpar.ac.id

Abstract

Indonesia has plenty of natural resources which has not utilized yet, such as microalgae. Many valuable components, such as natural antioxidants which can be explored from it. The goal of this research is to maximize the growth of microalgae (*Nannochloropsis sp.*) so that it can produce more biomass. The variables observed were the addition of oxygen through aeration and nitrogen using NaNO_3 nutrients (450 $\mu\text{mol/L}$, 600 $\mu\text{mol/L}$, 750 $\mu\text{mol/L}$, and 900 $\mu\text{mol/L}$) during the growth of microalgae. The amount of biomass produced was measured using centrifuge and drying method. The results showed that the aeration and the addition of NaNO_3 nutrients could increase the growth rate and yield of biomass from *Nannochloropsis sp.* The optimum condition was obtained at the cultivation with aeration and 900 $\mu\text{mol/L}$ NaNO_3 added. The highest biomass produced was 25.975 g (dry basis)/L medium.

Keywords: microalgae, *Nannochloropsis sp.*, aeration, NaNO_3

Pendahuluan

Pada abad ke-20 ini, semakin meningkatnya polusi dan pencemaran lingkungan menyebabkan semakin banyak penyakit yang muncul dan menyerang manusia serta hewan ternak. Selain itu, radikal bebas juga meningkat seiring dengan meningkatnya polusi. Radikal bebas dapat disebabkan dari kerusakan *X-rays*, ozon, asap rokok, polusi udara, dan bahan kimia industri (Bagchi, 1998) dan dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti jantung koroner (aterosklerosis), *stroke*, diabetes, kanker, liver dan kondisi yang berhubungan dengan umur seperti *Alzheimer*. Oleh karena meningkatnya jumlah penyakit degeneratif akibat radikal bebas ini, maka sangat diperlukan penangkal radikal bebas, salah satunya adalah antioksidan.

Indonesia yang terkenal akan kekayaan lautnya, memiliki beragam jenis spesies laut, salah satunya adalah mikroalga yang menjadi sumber antioksidan alami. Mikroalga merupakan salah satu penghasil karotenoid terbesar yang dapat dimanfaatkan dalam bidang *pharmaceuticals*, *neutraceutical*, bahan tambahan pakan, dan kosmetik. Beberapa pigmen yang umum terkandung dalam mikroalga terdiri dari klorofil, β -karoten, astaxanthin, dan lutein. Karotenoid-karotenoid tersebut diproduksi oleh beberapa mikroalga, yaitu *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Anthrospira platensis*, serta *Nannochloropsis sp.* *Nannochloropsis sp.* biasanya dimanfaatkan sebagai *biofuel* atau industri *aquaculture* dan belum pernah dimanfaatkan untuk kesehatan manusia. Penemuan terbaru menunjukkan bahwa komponen nutrisi biokimia dari *Nannochloropsis sp.* berpotensi dalam aplikasi makanan kesehatan di masa depan. Menurut Markovits (1992) dan Bishop (2012), *Nannochloropsis sp.* telah disarankan untuk digunakan dalam aplikasi *neutraceutical* karena adanya asam lemak *eicosapentaenoic acid* (EPA), vitamin, serta mineral-mineral penting yang terkandung di dalamnya. Asam lemak penting (EPA dan DHA) diketahui berguna untuk kesehatan manusia dalam menurunkan kemungkinan atau risiko dari penyakit jantung, kolesterol, memaksimalkan fungsi otak dan ketajaman penglihatan (terutama pada janin), serta menurunkan peradangan dan arthritis (Arts, 2001). Kent, dkk. (2015) melaporkan bahwa dengan rata-rata 3,68% (basis kering), kuantitas EPA diperoleh dari *Nannochloropsis sp.* 100 kali lipat lebih besar dibandingkan sampel mikroalga lain yang diuji, dengan konsentrasi EPA yang diperoleh sebesar 3,18-4,33%.

Struktur sel mikroalga yang sederhana dengan luas permukaan yang besar mempengaruhi kecepatan pertumbuhan dan pembelahan sel dari mikroalga. Pada kondisi pertumbuhan yang optimum, pembelahan sel mikroalga dapat terjadi setiap 3-4 jam, dan spesies pada umumnya memerlukan waktu 1-2 hari untuk peningkatan populasi. Metabolisme mikroalga dapat dibagi menjadi beberapa kategori, antara lain heterotropik, autotropik, mixotropik, fotoheterotropik, dan fotoautotropik. Cara pembudidayaan mikroalga sangatlah penting untuk mengetahui laju pertumbuhan dan *yield* biomassa kering dari mikroalga sehingga selanjutnya dapat diteliti aktivitas antioksidan dari mikroalga. Komposisi dan rancangan media dapat mempengaruhi pertumbuhan dari mikroalga.



Nutrisi yang kurang terpenuhi pada saat kultivasi akan memperlambat laju pertumbuhan dan produktivitas mikroalga. Menurut Hariz (2017), terdapat beberapa syarat pertumbuhan dan produktivitas yang harus dipenuhi dalam kultivasi mikroalga, antara lain makronutrien yang optimal (karbon, nitrogen, fosfor), mikronutrien (Ca, Mn, Fe, Zn, Cu), faktor pertumbuhan (vitamin, asam amino), faktor fisik (suhu, cahaya, aktivitas air, dan pertukaran udara) serta penambahan aditif (pelindung dan agen netralisasi). Dalam penelitian ini akan diteliti pengaruh aerasi dan nutrisi NaNO_3 terhadap pertumbuhan dan *yield* biomassa kering dari *Nannochloropsis sp.*

Metode Penelitian

Media Pertumbuhan *Nannochloropsis sp.*

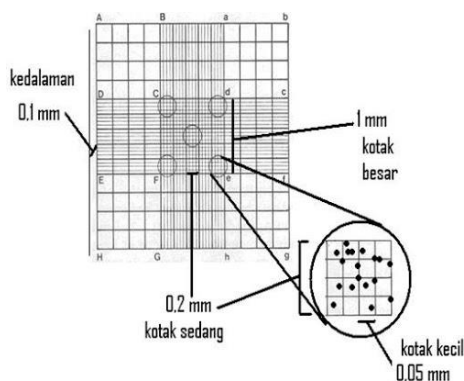
Nannochloropsis sp. merupakan jenis alga hijau (Chlorophyta) uniseluler yang dikategorikan dalam filum Heterokontophyta, kelas Eustigmatophyceae, dan famili Eustigmataceae. Selnya berbentuk bola, berukuran sedang dengan diameter 2-8 μm . Kelebihan jenis mikroalga ini cukup mudah dikultur dalam waktu singkat dan nilai nutrisinya sangat tinggi. Chisti (2007) menambahkan bahwa, lipid dari *Nannochloropsis sp.* dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel, dan asam lemak serta pigmennya dapat digunakan sebagai zat antibakterial dan antioksidan. Starter *Nannochloropsis sp.* yang digunakan dalam percobaan ini diperoleh dari Laboratorium Ekologi, Fakultas SITH, Institut Teknologi Bandung. Media pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* yang digunakan adalah media Walne (1979) dengan komposisi yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Nutrien Media Walne (1979)

Elemen Nutrien	Konsentrasi
Na_2EDTA	45 mg/L
NaNO_3	100 mg/L
H_3BO_3	33.6 mg/L
Na_2HPO_4	20 mg/L
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.36 mg/L
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.3 mg/L
Trace Metal Solution (2.1 g/L ZnCl_2 ; 2 g/L $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.9 g/L $(\text{NH}_4)_6\text{M}_2\text{O}_7$; 2 g/L $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	1 mL/L
Vitamin Solution (100 mg/L Tiamina; 2 mg/L Cianocobalamina; 1 mg/L Biotina)	1 mL/L

Kondisi Kultivasi dan Penentuan Analisa

Penelitian ini dilakukan pada Erlenmeyer 2000 mL yang mengandung media pertumbuhan Walne dengan rasio inokulum mikroalga sebesar 10% (100 mL inokulum dalam 900 mL media Walne) dengan variasi percobaan yang ditunjukkan pada Tabel 2. Volume kerja penelitian adalah 1000 mL untuk setiap Erlenmeyer dengan sisa ruang kosong yang berfungsi untuk pertukaran udara. Setiap Erlenmeyer dialirkan udara dengan laju alir udara sebesar 20 L/menit dengan menggunakan pompa udara. Suhu percobaan dijaga pada $28 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan intensitas cahaya sebesar 600 lux yang berasal dari lampu LED. Sampel percobaan diambil setiap hari pada jam yang sama. Absorbansi dari sampel diambil untuk dibaca menggunakan spektrofotometer dan jumlah sel dihitung menggunakan *haemocytometer*. *Haemocytometer* digunakan dengan cara pengambilan sekitar 10 μL sampel dengan pipet dan ditetaskan diatas *haemocytometer* lalu ditutup dengan *cover glass*. *Haemocytometer* kemudian diletakkan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan jumlah sel dihitung berdasarkan Gambar 1 dan Persamaan (1).



Gambar 1. Perhitungan Jumlah Sel dengan *Haemocytometer* (Junedi, 2008)

Jumlah sel dihitung pada 5 kotak yang dibulatkan pada gambar diatas. Jumlah sel per ml dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Jumlah sel per mL} = \frac{1}{80 \times 25 \times 10^{-9}} \times \text{jumlah sel dalam 5 kotak} \quad (1)$$

Kadar air yang terkandung dalam biomassa kering dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat sampel basah (g)} - \text{Berat sampel kering (g)}}{\text{Berat sampel basah (g)}} \times 100\% \quad (2)$$

Yield biomassa kering yang diperoleh dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

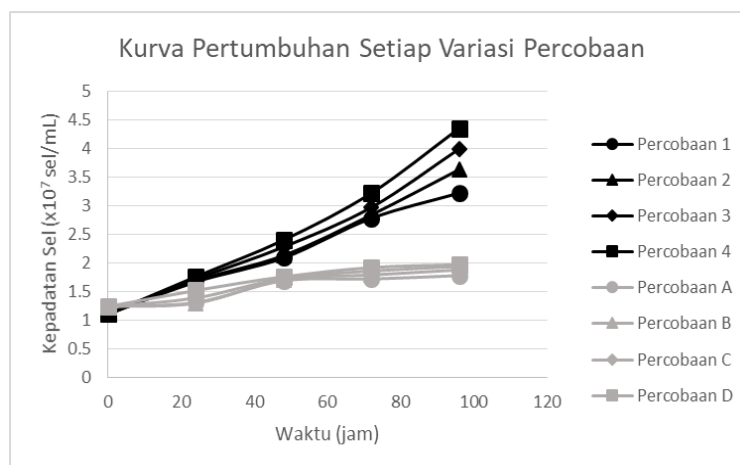
$$\text{Yield biomassa kering} = (100 - \text{Kadar air}) \% \times \text{berat sampel basah (g)} \quad (3)$$

Tabel 2. Variasi Percobaan Aerasi dan Nitrogen

Percobaan	Faktor 1 Aerasi	Faktor 2 Konsentrasi NaNO ₃ (μmol/L)
1	Dengan Aerasi	450
2	Dengan Aerasi	600
3	Dengan Aerasi	750
4	Dengan Aerasi	900
A	Tanpa Aerasi	450
B	Tanpa Aerasi	600
C	Tanpa Aerasi	750
D	Tanpa Aerasi	900

Hasil dan Pembahasan

Dari hasil kultivasi inokulum yang dilakukan sebelumnya, kemudian dilakukan variasi percobaan yang diamati selama 5 hari untuk mengetahui pengaruh aerasi dan nutrisi NaNO₃ terhadap pertumbuhan dan *yield* biomassa kering *Nannochloropsis sp.* Pengaruh aerasi ini perlu diteliti karena dengan adanya aerasi dapat menjaga mikroalga tetap tersuspensi dalam air, sebagai sumber oksigen, dan menjaga kebutuhan oksigen pada malam hari saat mikroalga tidak berfotosintesis. Menurut Afifah (2013), pengaruh nutrisi NaNO₃ ini juga penting untuk diteliti karena nutrisi berperan sebagai sumber energi dan bahan pembentuk sel. Berikut merupakan perbandingan kurva pertumbuhan dari setiap variasi percobaan.



Gambar 2. Perbandingan Kurva Tumbuh Variasi Percobaan

Selain kurva pertumbuhan, *yield* biomassa kering dari setiap variasi percobaan juga diamati. Berikut merupakan hasil biomassa kering dan kadar air yang diperoleh.



Tabel 3. Yield Biomassa Kering dan Kadar Air Setiap Variasi Percobaan

Percobaan	Kadar Air (%)	Yield Biomassa Kering (g)
1	79,055	25,865
2	79,04	25,89
3	79,005	25,925
4	78,97	25,975
A	79,245	25,63
B	79,235	25,65
C	79,215	25,695
D	79,185	25,705

Pengaruh Aerasi

Dari Gambar 2 diatas, dapat dilihat bahwa kultivasi mikroalga dengan adanya aerasi (percobaan 1 sampai 4) menunjukkan kurva pertumbuhan keseluruhan yang lebih tinggi dibandingkan kultivasi tanpa aerasi (percobaan A sampai D). Kepadatan sel yang dihasilkan dari kultivasi dengan aerasi menunjukkan rentang $2,5 \times 10^7$ sel/mL hingga $4,5 \times 10^7$ sel/mL, sedangkan kultivasi mikroalga tanpa aerasi hanya menghasilkan kepadatan sel dengan rentang $1,5 \times 10^7$ sel/mL hingga $2,5 \times 10^7$ sel/mL. Hal ini dapat terjadi karena faktor turbulen yang terjadi akibat adanya perpindahan udara melalui aerasi dapat meningkatkan efisiensi penggunaan cahaya oleh mikroalga. Menurut Hariz (2017), aliran turbulen penting dalam kultivasi mikroalga ini karena dapat meningkatkan laju perpindahan massa dari nutrisi menuju ke sel mikroalga. Ratnawati (2011) melaporkan bahwa kultur dengan aerasi lebih efektif untuk membantu sel mikroalga mengkonsumsi nutrisi yang ada. Selain itu, selama proses fotosintesis mikroalga mengkonsumsi karbon dioksida dan melepaskan oksigen sehingga kandungan oksigen dalam sistem kultivasi meningkat. Kandungan oksigen berlebih dalam sistem dapat menyebabkan foto-oksidatif dan kerusakan klorofil mikroalga yang akan menurunkan produktivitas dari mikroalga. Menurut Woertz (2009), aerasi menghasilkan perpindahan massa yang membuat oksigen berlebih keluar dari media pertumbuhan selama proses fotosintesis. Reproduksi mikroalga juga meningkat dalam sistem turbulen dibandingkan sistem yang diam dan dapat menghasilkan peningkatan jumlah biomassa.

Ditinjau dari hasil *yield* biomassa kering pada Tabel 3, kultivasi mikroalga dengan adanya aerasi (percobaan 1 sampai 4) menunjukkan nilai biomassa kering yang tinggi secara keseluruhan dibandingkan dengan kultivasi mikroalga tanpa adanya aerasi (percobaan A sampai D). Hariz dan Takrieff (2017) melaporkan bahwa jumlah biomassa kering yang dihasilkan dari kultivasi dengan aerasi mencapai nilai maksimum hingga 1,4 g/L dengan nilai konstanta laju pertumbuhan spesifik maksimum hingga 0,3231, sedangkan biomassa kering yang dihasilkan dari kultivasi tanpa aerasi hanya menunjukkan nilai maksimum sebesar 1,2 g/L dengan nilai konstanta laju pertumbuhan spesifik maksimum sebesar 0,1975. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa aerasi menghasilkan laju pertumbuhan dan *yield* biomassa kering *Nannochloropsis sp.* yang optimum.

Pengaruh Konsentrasi NaNO_3

Nutrisi merupakan salah satu faktor yang paling penting dalam produktivitas mikroalga. Kurangnya komponen nutrisi dapat menyebabkan rendahnya laju pertumbuhan dari mikroalga. Nutrisi terdiri atas makronutrien (karbon, nitrogen, fosfor) dan mikronutrien (Ca, Mn, Fe, Zn, Cu). Salah satu nutrisi yang berperan penting dalam pertumbuhan mikroalga adalah nitrogen. Menurut Dortch (1990), nitrogen memiliki sumber yang luas, bahkan beberapa spesies mikroalga dapat memperbaiki gas nitrogen di udara melalui proses fiksasi nitrogen untuk digunakan dalam proses pertumbuhan. Semakin tinggi kandungan nitrogen pada kondisi pertumbuhan dapat meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas mikroalga karena nitrogen dapat membentuk protein, lemak, dan klorofil. Nitrat (NO_3^-) merupakan bentuk utama nitrogen di perairan alami dan merupakan nutrisi utama bagi pertumbuhan mikroalga.

Dari variasi percobaan yang telah dilakukan, dapat dilihat pada Gambar 2 bahwa dengan semakin tingginya konsentrasi NaNO_3 yang ditambahkan, pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* semakin optimum. Kepadatan sel yang dihasilkan pada kultivasi dengan $900 \mu\text{mol/L}$ NaNO_3 dapat mencapai $4,5 \times 10^7$ sel/mL, sedangkan kultivasi dengan $450 \mu\text{mol/L}$ NaNO_3 hanya menghasilkan kepadatan sel sebesar $3,0 \times 10^7$ hingga $3,5 \times 10^7$ sel/mL. Berdasarkan Tabel 3, *yield* biomassa kering yang dihasilkan juga meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi NaNO_3 yang digunakan dalam kultivasi. *Yield* biomassa kering optimum diperoleh pada variasi percobaan 4 yang melibatkan aerasi dengan menghasilkan jumlah biomassa kering sebesar 25,975 g. Menurut Arnata dkk. (2010), produksi biomassa *Nannochloropsis sp.* yang maksimal sebesar 0,33 g/L dihasilkan pada konsentrasi nitrat 104,12 g/L dan fosfat sebesar 15,72 g/L. Selain itu, Setiyoko (2014) melaporkan bahwa pembatasan kandungan nitrogen menyebabkan *Nannochloropsis sp.* tidak dapat menghasilkan kandungan protein secara optimal dimana dengan 0,3 g/L NaNO_3 menghasilkan *yield* biomassa kering sebesar 15,86 g/L, sedangkan dengan 0,075 g/L NaNO_3





menghasilkan *yield* biomassa kering sebesar 7,88 g/L. Dari hasil penelitian yang telah disebutkan diatas, dapat disimpulkan bahwa dengan penambahan konsentrasi NaNO_3 yang lebih rendah dibandingkan penelitian lain, *yield* biomassa kering *Nannochloropsis sp.* yang dihasilkan dari penelitian ini jauh lebih besar. Hal ini mungkin terjadi karena kondisi inokulum awal yang baik yang disertai dengan adanya aerasi dan penambahan NaNO_3 yang optimum.

Kesimpulan

Dari hasil percobaan, dapat dibuktikan bahwa laju pertumbuhan dan *yield* biomassa kering *Nannochloropsis sp.* dipengaruhi oleh aerasi dan konsentrasi NaNO_3 dengan jumlah biomassa kering optimum yang diperoleh sebesar 25,975 g. Oleh karena itu, penting untuk melibatkan aerasi dan meningkatkan konsentrasi NaNO_3 dalam kultivasi agar pertumbuhan dan produktivitas *Nannochloropsis sp.* optimum.

Daftar Pustaka

- Afifah, A.S., Hermana, J. 2013. "Efek Aerasi dan Konsentrasi Substrat pada Laju Pertumbuhan Alga Menggunakan Sistem Bioreaktor Proses Batch." *Jurnal Teknik Pomits* Vol 2 (1).
- Arnata, W., Gunam, B.W., Anggreni, A.D., Aryanta, W.R., Loberto, P.M. 2010. "Produksi biomassa dan potensi nutrisi mikroalga *Nannochloropsis sp.*" Thesis.
- Arts, M.T., Ackman, R.G., Holub, B.J. 2001. "Essential fatty acids in aquatic ecosystems : a crucial link between diet and human health and evolution." *Can J Fish Aquat Sci* 122-137.
- Bagchi, K., Puri, S. 1998. "Free radicals and antioxidants in health and disease." *East Mediteranian Health Jr.* 350-360.
- Bishop, W.M., Zubeck, H.M.,. 2012. "Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplements." *J Nutr Food Sci* 147\.
- Chisti, Y. 2007. "Biodiesel from microalgae." *Biotechnology Advances* 3: 294-306.
- Dortch, Q. 1990. "The Interaction Between Ammonium and Nitrate Uptake in Phytoplankton." *Marine Ecology Progress Series* 183-201.
- Fachrullah, M.R. 2011. *Laju pertumbuhan mikroalga penghasil biofuel jenis Chlorella sp. dan Nannochloropsis sp. yang dikultivasi menggunakan air limbah hasil penambangan timah di Pulau Bangka.* Thesis, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hariz, H.B., Takriff, M.S. 2017. "Growth and Biomass Production of Native Microalgae *Chlorella sp.*, *Chlamydomonas sp.*, and *Scenedesmus sp.* Cultivated in Palm Oil Mill Effluent (POME) at Different Cultivation Conditions." *Transactions on Science and Technology* 4: 298-311.
- Hu, H., dan K, Gao. 2006. "Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis sp.* to environmental factors under elevated CO_2 concentration." *Biotechnol. Lett.* 987-992.
- Junedi, S., Hermawan, A., Ikhawati, M., Meiyanto, E. 2008. *Cancer Chemoprevention Research Center.* ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/8-sop-perhitungan-sel.pdf.
- Kent, M., Welladsen, H.M., Mangott, A., Li, Y. 2015. "Nutritional Evaluation of Australian Microalgae as Potential Human Health Supplements." *PLoS ONE*.
- Markovits, A., Conejeros, R., Lopez, L., Lutz, M. 1992. "Evaluation of marine microalgae *Nannochloropsis sp.* as a potential dietary supplement. Chemical, nutritional and short term toxicological evaluation in rats." *Nutr Res* 1273-1284.
- Ratnawati, R. 2011. *Efek Penambahan Unsur Kalium dan Aerasi Terhadap Kinerja Alga-Bakteri untuk Mereduksi Polutan pada Air Boezem Morokrembangan, Surabaya.* Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Ren, Tingting. 2014. "Primary Factors Affecting Growth of Microalgae Optimal Light Exposure Duration and Frequency." *Graduate Theses and Dissertations.*
- Setiyoko, D. 2014. "Pengaruh suhu dan konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan dan kandungan lemak pada *Nannochloropsis oculata* dan *Chlorella vulgaris* untuk produksi biodiesel." Thesis.
- Stephens, E., Ross, I.L., Mussgnug, J.H., Wagner, L.D., Borowitzka, M.A., Posten, C., Hankamer, B. 2010. "Future prospects of microalgal biofuel production systems." *Trends in Plant Science* 554-564.
- Woertz, I., Feffer, A., Lundquist, T., Nelson, Y. 2009. "Algae Grown on Dairy and Munciple Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock." *Journal of Environmental Engineering* 1115-1122.





Lembar Tanya Jawab

Moderator : Firman Kurniawansyah (ITS Surabaya)
Notulen : Belinda Purboningrum (UPN "Veteran" Yogyakarta)

1. Penanya : Evania (Teknik Kimia UNPAR Bandung)
Pertanyaan : Bagaimana cara mengetahui mikroba mati?
Jawaban : Warnanya akan coklat dan mengendap
2. Penanya : Chesar Yudha (Teknik Kimia UPN "Veteran" Yogyakarta)
Pertanyaan : Mikroba di alam bagaimana mencarinya?
Jawaban : Hidup di air laut, fase kematian selama 5 hari.
3. Penanya : Pia Sabrina (Teknik Kimia Unila)
Pertanyaan : Bagaimana agar alga tidak mati?
Jawaban : Dengan cara mengkondisikan aerasi, suhu dan proses.
4. Penanya : Nanette Litya (Teknik Kimia UNPAR Bandung)
Pertanyaan : Mengapa menggunakan alga tersebut?
Jawaban : Karena banyak ditemukan di Indonesia dan banyak mengandung EPA
5. Penanya : Firdaus Juanda (Universitas Jambi)
Pertanyaan : Bagaimana cara mengetahui yang menumbuhkan mikroalga itu NaNO_3 ?
Jawaban : Yang terdapat pada air adalah NO_3^- , karena NO_3^- yang mempengaruhi alga maka diasumsikan NO_3^- yang menumbuhkan mikroalga.
6. Penanya : Michael Gunawan (UNPAR Bandung)
Pertanyaan :
 - Untuk penelitian F dan N dibuat fix atau ditambahkan senyawa lain?
 - Bagaimana metode kultivasi?Jawaban :
 - Dalam media sudah ada F dan N sehingga dibuat fix.
 - Dari skala kecil dahulu, lalu dipindahkan ke media yang lebih besar agar banyak berproduksi.

