



**PRODUKSI PEPTON HALAL HASIL HIDROLISAT UDANG REBON  
(*Mysis*, Sp.) KERING SEBAGAI SUMBER NITROGEN BAGI  
PERTUMBUHAN BAKTERI ASAM LAKTAT**

**TESIS**

oleh

**DANI SETIAWAN  
NIM 151720101007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNOLOGI AGROINDUSTRI  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**PRODUKSI PEPTON HALAL HASIL HIDROLISAT UDANG REBON  
(*Mysis*, Sp.) KERING SEBAGAI SUMBER NITROGEN BAGI  
PERTUMBUHAN BAKTERI ASAM LAKTAT**

**TESIS**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Magister Teknologi Agroindustri (S2) dan mencapai gelar Magister Pertanian

oleh

**DANI SETIAWAN  
NIM 151720101007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNOLOGI AGROINDUSTRI  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Allah SWT, puji syukur atas kehadiratNya yang telah memudahkan segala urusan hambaMu, semoga rahmat dan ampunanMu selalu mengiringi setiap langkah hambaMu dan berilah ampun atas segala dosa hamba;
2. Rosulullah SAW, terima kasih telah membimbing umat manusia menjadi khalifah di bumi serta menjadi tauladan umatmu untuk mencapai sebuah kedamaian;
3. Ibunda Sugimah dan Ayahanda Tukimun tercinta yang telah memberikan doa restu dan memberi semangat, serta dukungan selama ini;
4. Saudaraku Ikwanto dan Dewi Wahyuni yang telah memberikan doa, semangat, dan motivasi atas penyelesaian pendidikanku;
5. Sahabat seperjuangan MTA 2015 yang telah memberikan semangat, semoga kita dapat sukses bersama;
6. Guru-guruku TK Khadijah Ds. Wringinpitu, SDN 1 Wringinpitu, SMP PGRI 2 Tegaldlimo, SMA N 1 Tegaldlimo sampai dengan perguruan tinggi;
7. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

## MOTTO

*“...Janganlah kamu bersikap lemah, dan janganlah pula kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi derajatnya, jika kamu orang-orang yang beriman.” (Q.S. Al-Imran: 139)” \**

Tidak ada masalah yang tidak bisa diselesaikan selama ada komitmen untuk menyelesaikannya. Berangkat dengan penuh keyakinan, berjalan dengan penuh keikhlasan, istiqomah dalam menghadapi cobaan \*\*)

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT. Karya Toha Putra.

\*\*\*) Penulis

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dani Setiawan

NIM : 151720101007

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Produksi Pepton Halal Hasil Hidrolisat Udang Rebon (*Mysis*, Sp.) Kering sebagai Sumber Nitrogen Bagi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Februari 2018

Yang menyatakan,

Dani Setiawan

NIM 151720101007

**TESIS**

**PRODUKSI PEPTON HALAL HASIL HIDROLISAT UDANG REBON (*Mysis*,  
Sp.) KERING SEBAGAI SUMBER NITROGEN BAGI PERTUMBUHAN  
BAKTERI ASAM LAKTAT**

oleh  
**Dani Setiawan**  
**NIM 151720101007**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., P.hD.  
Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Jayus

**PENGESAHAN**

Tesis berjudul “Produksi Pepton Halal Hasil Hidrolisat Udang Rebon (*Mysis*, Sp.) Kering sebagai Sumber Nitrogen Bagi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat” karya Dani Setiawan NIM 151720101007 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

hari/tangga : Rabu, 25 April 2018

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., P.h.D.

NIP. 196905171992011001

Dr. Ir. Jayus

NIP. 196805161992031004

Ketua,

Tim penguji,

Anggota,

Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc

NIP. 196411091989021002

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si

NIP. 197904102003122004

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng.

NIP. 196809231994031009

**RINGKASAN**

**PRODUKSI PEPTON HALAL HASIL HIDROLISAT UDANG REBON (*Mysis*, Sp.) KERING SEBAGAI SUMBER NITROGEN BAGI PERTUMBUHAN BAKTERI ASAM LAKTAT;** Dani Setiawan, 151720101007; 2015; 87 halaman; Magister Teknologi Agroindustri Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Pepton dapat dijadikan sebagai sumber nitrogen utama dalam media komersial untuk pertumbuhan bakteri. Pepton komersial hingga saat ini memiliki harga yang masih mahal terutama di Indonesia, karena masih harus mengimpor. Selain itu pepton komersial sampai saat ini masih belum terjamin kehalalannya. Oleh karena itu diperlukan alternatif lain untuk mengatasi permasalahan tersebut. Salah satunya dengan memanfaatkan komoditas kelautan sebagai bahan baku pembuatan pepton. Komoditas kelautan yang cukup potensial untuk dikembangkan menjadi pepton yaitu udang rebon kering. Pembuatan pepton dapat dilakukan dengan menghidrolisis protein secara enzimatis dan menggunakan asam. Semakin lama waktu reaksi hidrolisis. Di sisi lain pemanfaatan udang rebon kering menjadi pepton merupakan salah satu peluang pemanfaatan usaha yang baru, sehingga perlu dilakukan analisis kelayakan finansial agar usaha yang akan dikembangkan diketahui kelayakan usahanya. Tujuan dari penelitian adalah mengetahui lama hidrolisis produksi pepton dari udang rebon kering, mengetahui efektifitas pepton untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, dan mengetahui kelayakan finansial produksi pepton udang rebon kering.

Penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan udang rebon kering sebagai bahan baku pembuatan pepton. Parameter yang diamati dalam penelitian ini antara lain analisis bahan baku yang meliputi kadar air udang rebon kering metode Thermogravimetri dan kadar protein udang rebon kering. Selanjutnya karakterisasi pepton cair udang rebon kering yang meliputi rendemen pepton, total nitrogen terlarut dan total nitrogen bahan (NTT/NTB), protein terlarut, dan profil asam amino menggunakan HPLC. Pepton yang telah dikarakterisasi dilakukan uji pada pertumbuhan bakteri asam laktat. Selain itu pepton diaplikasikan dalam pembuatan starter dan diuji pertumbuhan bakterinya. Setelah itu dilakukan uji kelayakan



finansial yang meliputi NPV (*Net Present Value*), IRR (*Internal Rate of Return*), BC ratio (*Benefit Cost Ratio*), PBP (*Payback Period*), dan BEP (*Break Event Point*).

Lama hidrolisis 4,5 jam dapat meningkatkan rendemen berbasis bahan baku, rendemen berbasis protein, protein terlarut, NTT/NTB, dan jumlah mikroba serta menurunkan nilai pepton cair pH 5,5-7,05. Pepton udang rebon kering dapat digunakan sebagai pengganti pepton komersial untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Karakteristik pepton udang rebon kering yaitu protein terlarut  $23,0820 \pm 0,2524$ - $56,59 \pm 0,1963$  mg/ml, rendemen berbasis bahan baku 4,41-12,86 %, rendemen berbasis protein 14,3644-42,2644 %, NTB/NTT  $0,126 \pm 0,0063$ - $0,1399 \pm 0,0003$ , dan populasi BAL pada starter MOCAF  $1,75 \times 10^9$ - $2,26 \times 10^8$  cfu/ml. Usaha pepton udang rebon kering layak untuk dijalankan karena semua komponen kelayakan finansial telah memenuhi kriteria.

## SUMMARY

**Production of Lawful Peptone from Shrimp (*Mysis, Sp.*) Hydrolyzate as a Nitrogen Source for The Growth of Lactic Acid Bacteria;** Dani Setiawan, 151720101007; 2015; 87 pages; Magister of Agroindustry Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Peptone can be used as the main nitrogen source in commercial media for the bacteria growth. Commercial peptone is still had a price, especially in Indonesia, because it still have to import. In addition, commercial peptone until now still not guaranteed halal. Therefore, another alternative is needed to solve the problem. One of them by utilizing marine commodities as raw material for making peptone. Potential marine commodities to be developed into peptone is dried shrimp. Making peptone can be done by hydrolyzing proteins enzymatically and using acid. The longer the hydrolysis reaction time. On the other hand, the utilization of dried shrimp into peptone is one of the new business utilization opportunities, so it is necessary to perform financial feasibility analysis so that the business to be developed is known its business feasibility. The purpose of this research is to know the duration of hydrolysis of peptone production from dried shrimp, to know the effectiveness of peptone for the growth of lactic acid bacteria, and to know the financial feasibility of peptone production of dried shrimp.

This research was conducted by using dried rebon shrimp as raw material for making peptone. Parameters observed in this study include analysis of raw materials including moisture content of dried rebon shrimp Thermogravimetric method and protein content of dried rebon shrimp. Further characterization of dried rebon shrimp liquid peptone includes peptone rendement, total dissolved nitrogen and total nitrogen ingredients (NTT / NTB), dissolved protein, and amino acid profile using HPLC. The characterized Pepton was tested on the growth of lactic acid bacteria. In addition, peptone is applied in making a starter and tested its bacteria growth. After the financial feasibility test which includes NPV (Net Present Value), IRR (Internal Rate

of Return), BC ratio (Benefit Cost Ratio), PBP (Payback Period), and BEP (Break Event Point).

The 4.5 hour hydrolysis time can increase the yield of raw material based, protein-based yield, soluble protein, NTT / NTB, and microbial count and decrease the peptone value of pH 5.5-7.05. Peptone dried rebon shrimp can be used as a commercial peptone replacement for the growth of lactic acid bacteria. Characteristics of rebon shrimp peptone were dissolved protein  $23.0820 \pm 0.2524$ - $56,59 \pm 0.1963$  mg / ml, rendement of raw materials 4,41-12,86%, protein-based yield 14,3644-42,2644 %, NTB / NTT  $0,126 \pm 0,0063$ - $0,1399 \pm 0,0003$ , and population of BAL at starter MOCAF  $1,26 \times 10^8$ - $2,26 \times 10^8$  CFU / ml. The business of dried rebon shrimp peptone is feasible to run because all components of financial feasibility have met the criteria.

## PRAKATA

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyusun dan menyelesaikan tesis yang “Produksi Pepton Halal Hasil Hidrolisat Udang Rebon (*Mysis*, Sp.) Kering sebagai Sumber Nitrogen bagi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat”. Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Dua (S2) di Program Studi Magister Teknologi Agroindustri Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Selama dalam menyusun tesis ini, tidak jarang penulis mengalami kesulitan, kekalutan serta kekecawaan, namun puji syukur kepada Allah SWT, karena banyak bantuan yang tidak ternilai dari berbagai pihak baik moral maupun spiritual, fasilitas maupun bimbingan. Untuk itu penulis mengucapkan terimakasih setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP, M. Eng., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc, selaku Kaprodi Magister Teknologi Agroindustri dan ketua penguji yang telah memberikan kritik, saran, serta bimbingan yang membangun dalam perbaikan penulisan tesis ini;
3. Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., P.hD., selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) dan juga Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dalam memberikan arahan dan motivasi selama kuliah;
4. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah membimbing selama penulisan tesis;
5. Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si., selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan kritik, saran, serta bimbingan dalam perbaikan penulisan tesis ini;
6. Ayah Tukimun, ibu Sugimah, kakak Ikwanto, dan adik Dewi Wahyuni, yang telah memberikan segala dukungan motivasi serta do'a yang tiada henti sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan;

7. Teknisi dan seluruh teman-teman seperjuangan di laboratorium mikrobiologi pangan, rekayasa proses, serta kimia dan biokimia hasil pertanian atas bantuan dan dukungan, semangat dan kerjasamanya hingga penelitian ini bias diselesaikan;
8. Bapak dan ibu dosen beserta segenap civitas akademik di lingkup Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
9. Teman-teman MTA 2015, yang telah memberikan warna persaudaraan selama pendidikan;
10. Teman-teman Forum Indonesia Muda Regional Jember yang telah memberikan inspirasi dan motivasi;
11. Saudara-saudaraku lingkaran cinta LQ, yang telah memberikan banyak inspirasi dalam diri serta motivasi;
12. Teman-teman kerja Copy Center Setengah Enam Pagi (SEP) 7, yang telah membantu dan memberikan banyak inspirasi dalam hidup;
13. Segenap pihak yang telah ikut andil dalam proses penyelesaian penelitian ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Dengan sepenuh hati penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini terdapat banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan. Oleh karena itu penulis selalu membuka diri terhadap kritik dan saran demi penyempurnaan tesis ini. Semoga tesis ini dapat memberi manfaat dan sumbangan ilmiah yang sebesar-besarnya bagi penulis dan pembaca.

Jember, 26 Maret 2018

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	x
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xviii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xix
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Kandungan Gizi Udang Rebon Kering</b> .....	5
<b>2.2 Karakteristik Papain</b> .....	6
<b>2.3 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim</b> .....	8
<b>2.4 Mekanisme Hidrolisis Protein</b> .....	9
<b>2.5 Karakteristik Kimia Pepton</b> .....	10
<b>2.6 Jenis-jenis Bakteri Asam Laktat</b> .....	12
<b>2.7 Makanan Halal Menurut Hukum Islam</b> .....	16
<b>2.8 Metode Analisis Kelayakan Finansial</b> .....	18
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	20

<b>3.2 Bahan dan Alat Penelitian</b> .....	20
3.2.1 Bahan .....	20
3.2.2 Alat .....	20
<b>3.3 Rancangan Penelitian</b> .....	21
3.2.1 Rancangan Penelitian .....	21
3.2.2 Pelaksanaan Penelitian .....	21
<b>3.4 Parameter Pengamatan</b> .....	25
<b>3.5 Analisis Data</b> .....	26
<b>3.6 Prosedur Analisis</b> .....	26
3.4.1 Kadar Air Tepung Udang Rebon Kering.....	26
3.4.2 Kadar Protein Tepung Udang Rebon Kering .....	27
3.4.3 Rendemen Pepton Udang Rebon Kering.....	27
3.4.4 Pengukuran Derajat Keasaman/pH Pepton Udang Rebon Kering.....	28
3.4.5 Uji Protein Terlarut Pepton Udang Rebon Kering .....	28
3.4.6 Analisis Total BAL.....	28
3.4.7 Profil Asam Amino Bubuk Pepton Udang Rebon Kering....	29
3.4.8 Analisis Kelayakan Finansial .....	31
<b>BAB 4. PEMBAHASAN</b>	
<b>4.1 Komposisi Kimia Tepung Udang Rebon Kering</b> .....	34
<b>4.2 Karakterisasi Pepton Udang Rebon Kering</b> .....	33
<b>4.3 Identifikasi Kehalalan pepton Udang Rebon Kering</b> .....	45
<b>4.4 Analisis Kelayakan Finansial Pepton Udang Rebon Kering</b> ...	48
<b>BAB 5. PENUTUP</b>	
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	56
<b>5.2 Saran</b> .....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	57

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Udang Rebon Kering.....	5
2.2 Reaksi Katalis Protein Secara Umum dalam Menghidrolisis Ikatan Peptida.....	7
2.3 Struktur Kimia Pepton .....	11
2.4 Bentuk <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	13
2.5 Metabolisme heterofermentatif <i>L. plantarum</i> .....	14
2.6 Metabolisme homo fermentatif <i>L. plantarum</i> .....	15
3.1 Rancangan Penelitian .....	21
3.2 Produksi Pepton Cair Udang Rebon Kering .....	23
3.3 Diagram Alir Pembuatan Starter .....	25
4.1 Nilai pH Pepton Udang Rebon Kering .....	35
4.2 Protein Terlarut Pepton Udang Rebon Kering .....	36
4.3 Rendemen Pepton Udang rebon Kering Berbasis Bahan Baku .....	38
4.4 Rendemen Pepton Udang Rebon Kering Berbasis Protein .....	39
4.5 Nilai NTT/NTB Pepton Udang Rebon Kering.....	40
4.6 Kenampakan BAL pada media (1) Pepton komersial; (2) Pepton lama hidrolisis 1,5 jam; (3) Pepton lama hidrolisis 3 jam; (4) Pepton lama hidrolisis 4,5 jam. ....	43



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan Gizi Udang Rebon Kering per 100 g .....	6
3.1 Komposisi Media Peptone-Glucose-Yeast .....	22
3.2 Kombinasi Perlakuan pada Pembuatan Starter .....	24
3.3 Gradien Fase Mobil.....	30
4.1 Komposisi Kimia Tepung Udang Rebon Kering .....	34
4.2 Profil Asam Amino Pepton Udang Rebon Kering.....	42
4.3 Populasi Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Media PGY-A .....	44
4.4 Viabilitas BAL pada Starter MOCAF.....	45
4.5 Komposisi Papain .....	46
4.6 Matriks Bahan dan Produsen .....	47
4.7 Matriks Bahan dan Produk.....	48
4.8 Kapasitas Produksi Pepton Udang Rebon Kering Skala Laboratorium maupun Skala UKM.....	48
4.9 Asumsi-asumsi Kelayakan Finansial Industri Pepton Udang Rebon Kering .....	50
4.10 Biaya Investasi Usaha Pepton Udang Rebon Kering.....	51
4.11 Jumlah Pendapatan Usaha Pepton Udang Rebon Kering .....	52
4.12 Analisis Kelayakan Finansial Pepton Udang Rebon Kering.....	53

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
4.1 Kadar Air Udang Rebon Kering .....	64
4.2 Kadar Protein Udang Rebon Kering .....	65
4.3 Nilai pH Pepton Udang Rebon Kering .....	66
4.4 Protein Terlarut Pepton Udang Rebon Kering .....	66
4.5 Rendemen Pepton Udang Rebon Berbasis Bahan Baku .....	68
4.6 Rendemen Pepton Udang Rebon Berbasis Protein .....	69
4.7 Nilai NTT/NTB Pepton Udang Rebon Kering.....	69
4.8 Kromatogram Profil Asam Amino Pepton Udang Rebon Kering .....	70
4.9 Pertumbuhan Populasi Bakteri Asam Laktat pada Media PGY.....	73
4.10 Pertumbuhan Populasi Bakteri Asam Laktat pada Starter .....	77
4.11 Asumsi dan Parameter untuk Kelayakan Keuangan .....	80
4.12 Kebutuhan Bahan Baku dan Bahan Pembantu.....	81
4.13 Biaya Tenaga Kerja.....	81
4.14 Biaya Pengemasan .....	82
4.15 Biaya Perbaikan dan Pemeliharaan Alat dan Bangunan .....	82
4.16 Biaya Investasi dan Penyusutan per Tahun.....	83
4.17 Biaya Produksi per Tahun.....	84
4.18 Penetapan Harga Pokok Penjualan dan Harga Jual.....	85
4.19 Produksi dan Pendapatan Kotor .....	86
4.20 <i>Casflow</i> dan Kelayakan Finansial .....	87

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pepton dapat dijadikan sebagai sumber nitrogen utama dalam media komersial untuk pertumbuhan bakteri (Fardiaz dan Yasni, 1998). Menurut Kurbanoglu dan Algur (2001), media pertumbuhan ini merupakan bagian penting dalam produksi sel mikrobial dan bioproduk dari industri fermentasi. Penggunaan pepton sangat luas mulai dari penggunaan pada laboratorium mikrobiologi (Uzeh *et al.*, 2006), media produksi *yeast* (Pantaya *et al.*, 2016), hingga pada industri berbasis bioteknologi (Facraniah *et al.*, 2002). Pepton komersial hingga saat ini memiliki harga yang masih mahal terutama di Indonesia, karena masih harus mengimpor. Menurut Anonim (2008), harga pepton komersial yang diproduksi oleh *Difco* dengan merk *Bactopeptone* per 500 gram mencapai US \$ 88,20 atau sekitar Rp. 1.200.000 dan per 2 kilonya sebesar US \$ 346,40 atau sekitar Rp. 4.850.000. Harga yang cukup mahal tidak mengurangi impor pepton komersial. Impor pepton di Indonesia pada periode Januari-Oktober 2013 mencapai 4.322.206 kg dengan nilai 17.888.159 US \$ (BPS, 2013).

Selain itu pepton komersial sampai saat ini masih belum terjamin kehalalannya. Menurut LPPOM MUI (2008), status produk mikrobial dapat menjadi haram jika menggunakan media dari bahan yang haram pada media agar, propogasi, dan produksi. Contoh media yang haram atau diragukan kehalalannya diantaranya darah, pepton (produk hasil hidrolisis bahan berprotein seperti daging, kasein atau gelatin menggunakan asam atau enzim), sehingga tidak dapat digunakan sebagai sumber nitrogen. Oleh karena itu diperlukan alternatif lain untuk mengatasi permasalahan tersebut. Salah satunya dengan memanfaatkan komoditas kelautan sebagai bahan baku pembuatan pepton.

Komoditas kelautan yang cukup potensial untuk dikembangkan menjadi pepton yaitu udang rebon kering. Produksi udang rebon di Jawa Timur pada tahun 2013 mencapai 11,6 ton (Pusat Data Statistik dan Informasi, 2013). Udang rebon kering memiliki kandungan nutrisi per 100 g bahan yang terdiri dari protein

sebesar 59,4 g, lemak 3,6 g, energi 299 kkal, sedangkan kandungan udang rebon basah per 100 g memiliki protein sebesar 16,2 g, lemak 1,2, dan energi 81 kkal. Di sisi lain udang rebon kering juga memiliki kandungan kalsium, fosfor, dan zat besi yang tinggi. Kandungan kalsium, fosfor, dan zat besi dalam 100 g udang rebon kering secara berturut-turut yaitu 2.306 mg, 625 g, dan 21,4 g (Persagi, 2009) serta kandungan Vitamin B1 sebesar 0,06 mg (Direktorat Gizi Depkes, 1992). Tingginya kandungan mineral menjadi keunggulan pada pepton yang dihasilkan.

Pembuatan pepton dapat dilakukan dengan menghidrolisis protein secara enzimatis dan menggunakan asam (Dufosse *et al.*, 2001). Hidrolisis secara asam memiliki berbagai kekurangan diantaranya dapat merusak sebagian atau semua asam-asam amino tertentu karena kondisi proses yang berlangsung pada suhu tinggi, memiliki kandungan garam yang tinggi karena adanya pembentukan garam saat netralisasi, dan merubah konformasi struktur L-asam amino menjadi D-asam amino (Whitaker, 2003). Produksi pepton secara enzimatis telah banyak dilakukan karena memiliki berbagai kelebihan yaitu hidrolisis protein berlangsung pada kondisi *mild*, dapat mengkonversi semua asam amino yang ada, tingkat kehilangan asam amino esensial lebih rendah, dan peptida yang dihasilkan lebih bervariasi (Ferreira *et al.*, 2007).

Enzim yang biasa digunakan untuk produksi pepton yaitu papain. Menurut Fitriani (2006) papain lebih tahan panas, mempunyai kisaran pH yang luas dan lebih murni dibandingkan bromelin dan ficin. Kisaran pH optimum papain berkisar antara 5-7,5 dan stabil pada suhu 40-60 °C. Papain tergolong dalam kelompok sistein peptidase yang merupakan enzim endopeptidase yang menghidrolisis gugus thiol pada sistein (Gul *et al.*, 2006). Papain bekerja secara optimal pada waktu tertentu. Peningkatan waktu hidrolisis mengakibatkan derajat hidrolisis meningkat, hal ini terjadi karena pemecahan ikatan peptida yang dilakukan oleh enzim (Nilsang *et al.*, 2005). Menurut Nurhayati, *et al.*, (2013), semakin lama waktu reaksi hidrolisis, semakin bertambah kecepatan reaksinya, hal ini disebabkan kontak antara substrat (dalam hal ini jeroan ikan tongkol) dan air makin lama. Hidrolisis memerlukan air untuk memecah protein menjadi asam-

asam amino. Dengan demikian perlu diketahui lama hidrolisis yang optimal pada produksi pepton udang rebon kering.

Di sisi lain pemanfaatan udang rebon kering menjadi pepton merupakan salah satu peluang pemanfaatan usaha yang baru. Peluang tersebut dapat dilakukan dengan menciptakan sebuah Usaha Kecil Menengah (UKM) sebagai upaya teknologi tepat guna yang memanfaatkan potensi kelautan, sehingga perlu dilakukan analisis kelayakan finansial agar usaha yang akan dikembangkan diketahui kelayakan usahanya.

## 1.2 Perumusan Masalah

Produksi pepton dapat dilakukan secara enzimatik dengan menghidrolisis protein menjadi peptida-peptida yang lebih sederhana. Hidrolisis protein pada umumnya dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dengan protein (Mielech *et al.*, 2014), waktu inkubasi, pH, dan suhu (Muchtadi *et al.*, 1992). Standar pepton yang baik yaitu memiliki nilai total nitrogen antara 12-13%,  $\alpha$ -amino nitrogen bebas antara 1,2-2,5%, dan kadar garam  $\leq 17\%$  (Bionutrien Technical Manual, 2006).

Hasil penelitian Nurhayati *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa enzim papain dapat digunakan dalam memproduksi pepton berbahan baku ikan hasil tangkap sampingan tidak layak konsumsi, penggunaan konsentrasi enzim 3 U/mg protein selama 5 jam menghasilkan pepton dengan karakteristik kimia total nitrogen,  $\alpha$ -Asam amino nitrogen bebas, AN/TN, kadar garam, dan pH hampir serupa dengan pepton komersial produksi *Oxoid*. Penelitian lain juga menyebutkan pembuatan pepton dengan bahan baku jeroan ikan tongkol menggunakan enzim papain dengan aktifitas spesifik 3,2770 U/mg menghasilkan karakteristik yang sama dengan pepton komersial yaitu  $\alpha$ -amino nitrogen bebas, AN/TN, kadar garam, kadar lemak, kadar abu, dan pH, nitrogen serta komposisi asam amino (Nurhayati *et al.*, 2013). Pantaya *et al.*, (2016), menjelaskan bahwa pepton dapat diproduksi dari bungkil kedelai menggunakan enzim papain kasar 2.000 U/g dengan suhu inkubasi 60-70 °C selama 1 jam, karena dapat menghasilkan pepton terlarut lebih tinggi.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

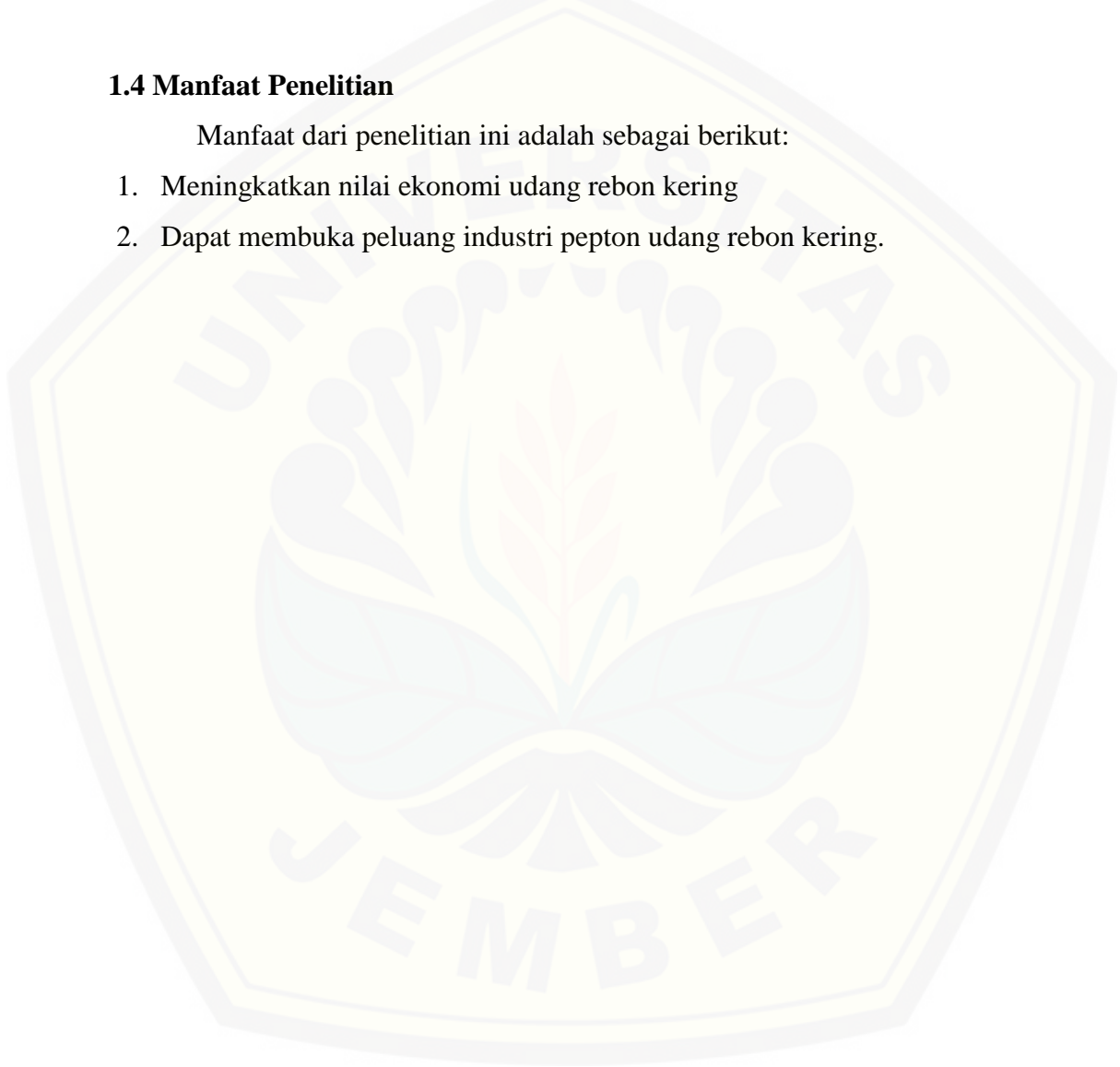
Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui lama hidrolisis produksi pepton dari udang rebon kering.
2. Mengetahui efektivitas pepton untuk pertumbuhan bakteri asam laktat.
3. Mengetahui kelayakan finansial produksi pepton udang rebon kering.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Meningkatkan nilai ekonomi udang rebon kering
2. Dapat membuka peluang industri pepton udang rebon kering.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kandungan Gizi Udang Rebon Kering

Udang merupakan salah satu sumber protein hewani yang cukup tinggi. Udang memiliki tekstur yang lembut dan sangat disukai oleh hampir seluruh masyarakat. Menurut Astawan (2009), udang rebon memiliki ukuran yang sangat kecil dan mudah ditemukan sebagai bahan baku terasi atau telah dikeringkan dan sangat jarang dijual dalam keadaan segar. Bentuk udang rebon kering dapat dilihat pada Gambar 2.1



**Gambar 2.1** Udang rebon kering (Dokumen pribadi, 2017)

Udang rebon merupakan *zooplankton* dengan ukuran panjang 1-1,5 cm yang terdiri dari kelompok *Crustacea* yaitu *Mysidocera acetes* dan *Larva peraedae* yang ditemukan disekitar muara (Nontji, 1986). Kandungan gizi Udang rebon baik yang segar maupun yang kering disajikan pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1.** Kandungan Gizi Udang Rebon per 100 g.

<b>Kandungan gizi</b>	<b>Udang rebon kering</b>	<b>Udang rebon segar</b>
Energi (kkal)	299	81
Protein (g)	59,4	16,2
Lemak (g)	3,6	1,2
Karbohidrat (g)	3,2	0,7
Kalsium (mg)	2.306	757
Fosfor (mg)	265	292
Besi (mg)	21,4	2,2
Vitamin A (SI)	0	60
Vitamin B1 (mg)	0,06	0,04
Air (g)	21,6	79,0

Sumber : Direktorat Gizi Depkes, (1992).

Tingginya protein dalam udang rebon kering, mendorong pemanfaatannya dalam berbagai olahan. Namun selama ini pemanfaatan udang rebon kering umumnya sebagai bahan baku pembuatan terasi dan pakan ternak (Rashinaya, 2011).

## 2.2 Karakteristik Papain

Protease merupakan enzim yang dapat menghidrolisis protein dalam bahan pangan atau bahan lainnya. Protease merupakan enzim yang sangat kompleks, mempunyai sifat fisika-kimia dan sifat-sifat katalitik yang sangat bervariasi, dihasilkan secara ekstraseluler oleh mikroorganisme (Ward, 1983). Menurut Rao *et al.*, (1998) protease berperan dalam sejumlah reaksi biokimia seluler. Selain untuk mendegradasi nutrient, protease terlibat dalam sejumlah mekanisme patogenisitas, proses koagulasi darah, proses sporulasi, diferensiasi, sejumlah proses pasca transisi protein dan mekanisme ekspresi proteas ekstraseluler. Saefudin (2006) menjelaskan bahwa protease memiliki peranan yang penting pada industri makanan diantaranya dalam proses konversi susu menjadi keju, sebagai bahan pada deterjen maupun pada pemrosesan kulit. Jenis enzim protease bermacam-macam antara lain enzim papain dan bromelin.

Papain merupakan enzim protease yang dapat diproduksi dari getah tanaman pepaya (*Carica papaya* L.). Menurut Muhidin (2000), menjelaskan



bahwa dalam satu kilogram getah pepaya dapat menghasilkan 200 g enzim papain kasar. Papain tergolong dalam kelompok sistein peptidase yang merupakan enzim endopeptidase yang menghidrolisis gugus thiol pada sistein (Gul *et al.*, 2006). Menurut Rao (1998) endopeptidase merupakan sifat enzim yang memutus ikatan peptida tidak pada ujung rantai polipeptida melainkan pada bagian dalam sehingga dihasilkan sejumlah peptida dan polipeptida. Endopeptidase secara umum sering digunakan dalam industri pangan dan biasanya juga digunakan secara bersamaan dengan eksopeptidase. Endopeptidase digolongkan menjadi empat golongan berdasarkan residu pada sisi katalitiknya yaitu protease serin, protease aspartat, protease sistein dan metalloproteinase. Rotease serin bekerja maksimum pada pH basa sementara protease aspartat bekerja maksimum pada pH asam. Selanjutnya protease sistein bekerja maksimum pada pH netral. Protease yang termasuk dalam golongan protease sistein ialah papain, bromelin, dan ficin (Walsh, 2004).

Papain juga banyak dipakai pada proses hidrolisis protein menggantikan proses-proses kimiawi. Industri pepton dan asam amino banyak memanfaatkan enzim ini. Papain juga digunakan sebagai bahan penghancur sisa limbah industri pengalengan ikan menjadi bubur ikan atau konsentrat protein hewani. Bubur ikan atau konsentrat protein ini digunakan sebagai bahan pakan ternak, ikan, atau diolah menjadi kecap. Papain juga dapat digunakan pada proses pengolahan bungkil kacang-kacangan menjadi konsentrat protein nabati (Muhidin, 2000). Menurut Hidayat (2005), papain memiliki kelebihan untuk mendegradasi kolagen atau elastin yang terdapat pada daging, sehingga diperoleh jaringan yang lebih lunak akibat hidrolisis.

Aktivitas papain dipengaruhi oleh suhu, pH, dan kekuatan ion. Papain dapat menghidrolisis amida pada residu asam amino seperti arginin, lisin, glutamine, histidin, glisin, dan tirosin (Muchtadi *et al.*, 1992). Papain memiliki aktivitas optimumnya terjadi pada pH 5-7 atau suhu 50-60°C serta akan menurun drastis pada pH 3 atau diatas pH 11 dan titik isoelektriknya 8,75. Papain juga memiliki berat molekul 23.350 g/mol dan enzim ini terdiri dari polipeptida yang mengandung 212 asam dengan Thio-SH (cys-25) sebagai golongan katalitik

(Wong, 1995; Reed, 1975). Selain itu aktivitas papain komersial rata-rata sebesar 36, 89 unit/gram, aktivitas ini menggambarkan bahwa jumlah unit aktivitas papain setara dengan 36, 89 mikromol ( $\mu\text{mol}$ ) tirosina yang terlepas untuk setiap gram papain setiap menit. Selain itu papain murni memiliki aktivitas sebesar 488 unit/gram sehingga waktu hidrolisis papain murni lebih singkat (Hasnan, 1991).

Papain memiliki kestabilan yang baik dalam larutan yang mempunyai pH 5 dan mempunyai daya tahan panas yang lebih tinggi dari enzim lainnya. Papain keaktifannya akan menurun 20% pada pemanasan  $70^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit pada pH 7 dengan keaktifan sintetik. Papain juga mempunyai kemampuan untuk membentuk protein baru atau senyawa yang menyerupai protein yang disebut plastein dari hasil hidrolisis protein (Wong 1995; Reed, 1975).

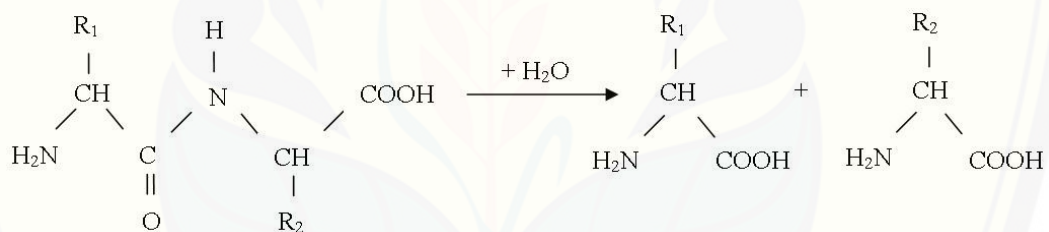
### **2.3 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim**

Kerja enzim dapat dipengaruhi oleh berbagai hal seperti suhu, pH, konsentrasi substrat, dan senyawa penghambat enzim. Suhu sangat mempengaruhi aktivitas enzim pada waktu mengkatalisis suatu reaksi. Peningkatan suhu menyebabkan aktifitas enzim juga meningkat. Secara umum, setiap peningkatan sebesar  $10^{\circ}\text{C}$  diatas suhu minimum, aktifitas enzim meningkat sebanyak dua kali lipat. Peningkatan suhu yang melebihi suhu optimumnya menyebabkan lemahnya ikatan di dalam enzim secara struktur (Pratiwi, 2008). Menurut Lehninger (2005) pada suhu maksimum enzim terdenaturasi karena struktur protein terbuka dan gugus non polar yang berada di dalam molekul menjadi terbuka keluar, kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun, sehingga aktivitas enzim juga turun.

Pratiwi (2008) menjelaskan selain suhu aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Konsentrasi substrat yang rendah enzim tidak mencapai konversi maksimum akibat sulitnya enzim menemukan substrat yang direaksikan. Seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, kecepatan reaksi juga meningkat akibat makin cepatnya substratnya terikat pada enzim. Peningkatan konsentrasi pada titik jenuh tidak lagi dapat meningkatkan laju rekasi.

## 2.4 Mekanisme Hidrolisis Protein

Hidrolisis protein merupakan pemutusan ikatan melalui hidrolisis baik secara enzimatik atau kimiawi, menjadi peptide dengan berbagai macam ukuran (Kristinson dan Rasco, 2000). Menurut Nielson (1997), hidrolisis protein adalah proses pecahnya atau terputusnya ikatan peptida dari protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Hidrolisis ikatan peptida menyebabkan beberapa perubahan pada protein, yaitu meningkatkan kelarutan karena bertambahnya kandungan  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$  dan berkurangnya berat molekul protein atau polipeptida, serta rusaknya struktur globular protein. Selain itu hidrolisis menyebabkan protein terpecah secara bertahap menjadi satu molekul peptide sederhana dan asam-asam amino. Proses hidrolisis yang sempurna menghasilkan asam amino  $\alpha$  konfigurasi L dari rantai sisi awalnya dan berbeda satu sama lainnya. Reaksi katalis protease secara umum dalam menghidrolisis ikatan peptida protein dapat dilihat pada Gambar 2.2.



*R1 = rantai peptida sebelumnya*

*R2 = rantai peptida sesudahnya*

**Gambar 2.2** Reaksi katalis protease secara umum dalam menghidrolisis ikatan peptida protein

Ada beberapa teknik untuk menghidrolisis protein, yaitu hidrolisis secara khemis (menggunakan asam atau basa) dan secara enzimatik. Teknik hidrolisis menghasilkan senyawa-senyawa pembangkit rasa seperti asam amino L, nukleotida dan berbagai macam peptida, produk hidrolisis ini dapat menjadi sumber pembangkit cita rasa umami dan juga sebagai sumber cita rasa daging. Protein yang tidak larut ketika proses hidrolisis diubah menjadi nitrogen terlarut berupa peptide, asam amino, amoniak dan senyawa-senyawa pembentuk cita rasa (Winarno, 1995).

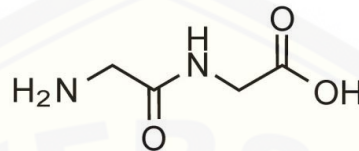
Hidrolisis protein secara sempurna menggunakan asam, alkali, dan enzim menyebabkan asam amino membentuk konfigurasi L dan dari rantai sisi awalnya akan berbeda satu sama lain. Sebagian besar protein memiliki komponen asam amino yang terdiri dari 20 asam amino yang berbeda. Hidrolisis secara khemis dapat menggunakan asam ataupun basa. Asam yang dapat digunakan antara lain HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (4-8 N) dan dipanaskan pada suhu mendidih, dapat dilakukan dengan tekanan di atas satu atmosfer selama satu jam. Hidrolisis protein menggunakan basa merupakan proses pemecahan polipeptida dengan menggunakan basa atau alkali kuat, seperti NaOH dan KOH pada suhu tinggi selama beberapa jam dengan tekanan di atas satu atmosfer (Giridra, 1993).

Hidrolisis enzimatik dilakukan dengan menggunakan enzim, dapat digunakan satu jenis enzim atau campuran beberapa jenis enzim. Pada hidrolisis enzimatik perlu dilakukan pengaturan kondisi pH dan suhu optimum (Uhlig, 1998). Dibandingkan hidrolisis secara khemis, hidrolitik enzimatik lebih menguntungkan karena tidak mengakibatkan kerusakan asam amino dan asam-asam amino bebas, peptida dengan rantai pendek yang dihasilkan lebih bervariasi, tingkat kehilangan asam amino esensial lebih rendah, biaya produksi relatif lebih murah, menghasilkan komposisi asam amino tertentu terutama peptida rantai pendek (dipeptida dan tripeptida) yang mudah diabsorpsi oleh tubuh (Giyatmi, 2001). Hidrolisis protein secara enzimatik menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi untuk memproduksi hidrolisat dengan *flavor* yang berbeda serta menghambat kerusakan tirosin dan triptofan khususnya triptofan pembentuk *flavor* (Giyatmi, 2001).

## 2.5 Karakteristik Kimia Pepton

Pepton adalah produk campuran polipeptida, dipeptida, dan asam amino yang dapat dihasilkan dari bahan-bahan yang mengandung protein melalui reaksi hidrolisis asam atau enzimatik (Fachraniah, 2002). Menurut Dufosse *et al.*, (2001) pepton merupakan suatu turunan atau derivat dari hidrolisat protein yang memiliki sifat larut dalam air, tidak mengalami koagulasi pada air panas, tidak mengalami *salting out* dengan ammonium sulfat, dan mengendap oleh pereaksi alkaloid

seperti asam fosfat. Pepton hasil hidrolisis dapat digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba sebagai sumber nitrogen. Menurut Kurbanoglu dan Algur (2001) media pertumbuhan ini merupakan bagian penting dalam produksi sel mikroba dan bioproduk dari industri fermentasi. Struktur kimia pepton dapat dilihat pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3** Struktur kimia pepton

Pembuatan pepton dapat menggunakan berbagai bahan baku ikan, diantaranya jeroan ikan cocktail ray (Poernomo dan Buckle, 2002), jeroan ikan cod (Aspmo *et al.*, 2005), limbah produksi fillet ikan (Martono *et al.*, 2005), kacang kedelai (Uzeh *et al.*, 2006), ikan Sardinella segar (Souissi *et al.*, 2009), ikan selar kuning (Wijayanti, 2010), kepala ikan tuna (Ovissipour *et al.*, 2010), ikan hasil tangkap sampingan (Nurhayati *et al.*, 2014), dan ikan cunang (Laoli *et al.*, 2015). Dufosse *et al.* (2001), menjelaskan bahwa pepton ikan dapat dijadikan sebagai komponen untuk substrat pertumbuhan mikroba. Pepton juga dapat dijadikan sebagai sumber nitrogen utama dalam media komersial untuk pertumbuhan mikroba yang terdiri dari campuran polipeptida, dipeptida, dan asam amino yang dapat diperoleh dari bahan yang mengandung protein melalui reaksi hidrolisis asam atau enzimatis (Fachraniah *et al.*, 2002).

Pembuatan pepton pada umumnya bahan baku dilakukan pencacahan dan ditambahkan dengan aquades. Setelah itu dihidrolisis menggunakan enzim protease pada *shaker bath* dan dilanjutkan pemisahan dengan sentrifugasi. Filtrat disimpan dan dilakukan pemisahan lemak. Selanjutnya dikeringkan menggunakan *spray dryer* dan dihasilkan pepton (Balitkan, 1999).

## 2.6 Jenis-jenis Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang bersifat gram positif, tidak membentuk spora, dapat berbentuk bulat atau batang, dengan komposisi basa

DNA kurang dari 50% mol G+C. BAL umumnya bersifat katalase negatif tetapi kadang-kadang terdeteksi katalase semu pada kultur yang ditumbuhkan pada konsentrasi gula rendah. Pertumbuhan BAL membutuhkan karbohidrat yang dapat difermentasi (Pot, *et al.*, 1994). Menurut Syahrurahman (1994) BAL memiliki suhu optimum  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, asam laktat sebagai produk utama fermentasi, mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, serta mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida.

Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat (Amin dan Leksono, 2001). Pada umumnya mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6-8 (Buckle *et al.*, 1987).

#### 2.6.1 *Lactobacillus plantarum*

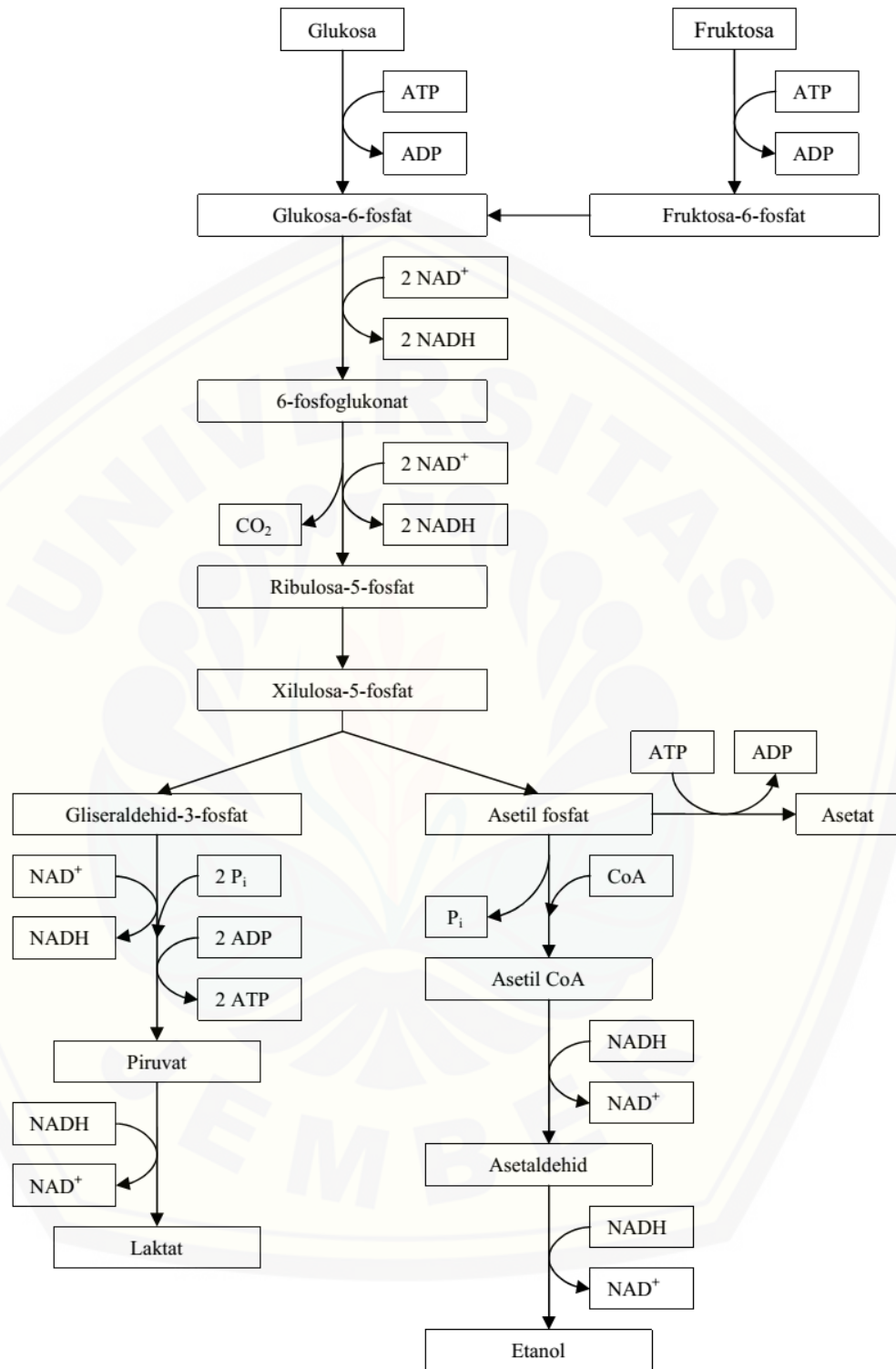
*L. plantarum* adalah bakteri gram positif, bakteri asam laktat yang berbentuk batang. Bakteri ini umumnya ditemukan di manusia dan saluran pencernaan mamalia lainnya, air liur, dan berbagai produk makanan. *L. plantarum* dapat tumbuh pada suhu antara  $15-45^{\circ}\text{C}$  dan pada tingkat pH serendah 3,2 (Kleerebezem, 1995). Menurut Ernawati (2010), *L. plantarum* berpotensi untuk mensintesis laktosa menjadi asam laktat. Selain itu juga *L. plantarum* juga dapat memfermentasi bentuk gula yang lain misalnya sukrosa, glukosa, fruktosa, rafinosa, xylosa, dan maltosa. *L. plantarum* pada uji karakteristik bakteri ini tidak bergerak (nonmotil) dan menunjukkan hasil positif pada uji proteolitik dan uji amilolitik. *L. plantarum* menunjukkan hasil negatif pada uji lipolitik, sedangkan pada uji indol bakteri ini menunjukkan hasil yang negatif. Bentuk *L. plantarum* dapat dilihat pada Gambar 2.4.



**Gambar 2.4** Bentuk *Lactobacillus plantarum* (Kleerebezem, 1995).

Elida (2002) dalam Hanum (2010), menyatakan bahwa *L. plantarum* tergolong dalam bakteri asam laktat homofermentatif yang tumbuh pada pH 3,0-4,6, dengan ciri-ciri sel berbentuk batang pendek (0,5-1,5 s/d 1,0-10  $\mu\text{m}$ ), warna koloni putih susu sampai abu-abu, serta mempunyai viabilitas tinggi untuk digunakan sebagai starter. *L. plantarum* mampu merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhirnya yaitu asam laktat. Menurut Buckle *et al.* (1978), asam laktat dapat menghasilkan pH yang rendah pada substrat sehingga menimbulkan suasana asam.

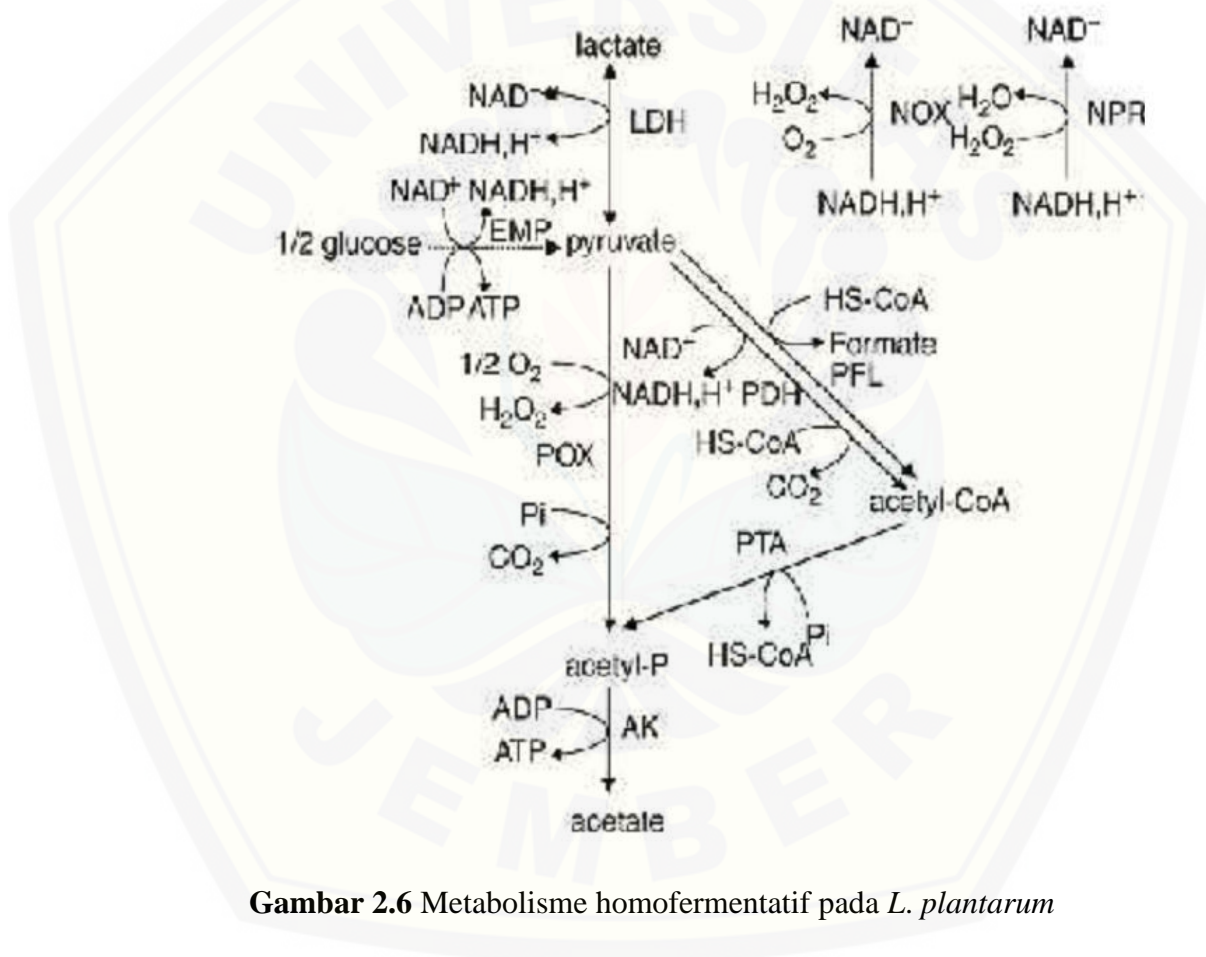
*L. plantarum* merupakan bakteri anaerob fakultatif atau hetero-fermentatif fakultatif, karena dapat tumbuh tanpa adanya oksigen. *L. plantarum* juga memiliki enzim untuk fermentasi dalam jalur Embden-Meyerhoff-Parnas dan melalui jalur phosphoketolase. Dengan demikian memungkinkan bakteri bersifat homofermentasi dan heterofermentasi (Kleerebezem, 1995). Ketika oksigen tidak hadir dan bakteri ini mengalami fermentasi homolaktat-seperti, *L. plantarum* mengkonversi sumber karbon untuk D- dan konfigurasi L- laktat dan alkohol melalui laktat dehidrogenase. Hal ini biasanya terjadi selama fase pertumbuhannya. Fermentasi Fermentasi secara heterofermentatif menghasilkan asam laktat, karbon dioksida, etanol, dan atau asam asetat. Pentosa difermentasi menjadi asam laktat dan asetat melalui phosphoketolase. Metabolisme heterofermentatif dari *L. plantarum* dapat di lihat pada Gambar 2.5.



**Gambar 2.5** Metabolisme heterofermentatif dari *L. plantarum*



Pada kondisi aerobik (fermentasi homofermentatif), laktat diubah menjadi asetat dan satu ATP diproduksi melalui dehidrogenase laktat, piruvat oksidase, dan asetat kinase. Selain memproduksi asetat, jalur ini juga membentuk hidrogen peroksida dan karbon dioksida sebagai produk sampingan. Hidrogen peroksida dibentuk oleh konversi oksigen melalui proses tergantung mangan. *L. plantarum* mempunyai reduktase fumarat, yang menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki rantai transpor elektron dasar bagi bakteri anaerob (Quatravaux *et al.*, 2006). Metabolisme homofermentatif pada *L. plantarum* dapat di lihat pada Gambar 2.6.



**Gambar 2.6** Metabolisme homofermentatif pada *L. plantarum*

Ernawati (2010), *L. plantarum* merupakan salah satu jenis BAL homofermentatif dengan temperature optimal lebih rendah dari 37°C. Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, toleran terhadap asam, dan mampu memproduksi

asam laktat. *L. plantarum* termasuk golongan mesofil yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu 25-45 °C.

#### 2.6.2 *Lactobacillus bulgaricus*

Bakteri *L. bulgaricus* merupakan bakteri gram positif yang tergolong dalam bakteri homofermentatif dengan bentuk batang dan memiliki suhu optimum pada kisaran 35°-45°C pH 4-5,5 (Rahman, 1992), kadang berpasangan dan tidak membentuk endospora (Wahyudi, 2006). Menurut Rahman (1992), bakteri *L. bulgaricus* menghasilkan asam laktat yang bersifat inhibitor bagi mikroba patogen maka produk yang memiliki kadar asam laktat tinggi akan lebih tahan lama. Selain itu juga pertumbuhan *L. bulgaricus* lambat pada suhu <10°C dan banyak strain dapat tumbuh pada suhu 50°-55°C (Tamime, 2005).

Penggunaan *L. bulgaricus* memberikan keuntungan diantaranya menghasilkan enzim yang mengubah glukosa atau laktosa selain membentuk asam laktat. Selain itu aktivitas enzim proteolitiknya lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya, sehingga produk yang dihasilkan dari fermentasi oleh bakteri ini memiliki cita rasa dan gizi yang tinggi (Soeharsono, 2010).

#### 2.6.3 *Streptococcus thermophilus*

Bakteri *S. thermophilus* merupakan bakteri yang tergolong pada gram positif dengan bentuk bulat (*coccus*) dan pertumbuhannya berbentuk rantai. Bakteri ini termasuk pada bakteri homofermentatif dengan pH optimum pertumbuhannya sekitar 6,5 (Wahyudi, 2006). *S. thermophilus* salah satu bakteri gram positif dan tumbuh baik pada suhu 37-40 °C. Bakteri ini bersifat homofermentatif, fakultatif anaerob dan memproduksi asam laktat (Ray, 2004). *S. thermophilus* ini tidak tahan hidup dalam usus manusia (Yoguchi, *et al.*, 1992).

### 2.7 Makanan Halal Menurut Hukum Islam

Makanan halal menurut hukum Islam yaitu makanan yang halal pada zatnya, halal dalam ataupun cara memperolehnya, dan halal dalam proses pengolahannya (Masthu, 1995). Hal ini juga sesuai dengan Al-Qur'an surat Al-

Baqarah ayat 168 yang artinya “*Hai sekalian manusia! Makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat dibumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan; karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu*”. Berdasarkan ayat tersebut dijelaskan bahwa manusia janganlah memakan makanan yang haram dan tidak baik bagi jiwa maupun kesehatan, karena hal tersebut merupakan langkah syaitan dan tidak dianjurkan oleh Allah Swt.

Menurut bahasa arab kata halalan berasal dari kata halla yang artinya lepas atau tidak terikat. Secara etimologi kata halalan berarti hal-hal yang boleh dan dapat dilakukan karena bebas atau tidak terikat dengan ketentuan-ketentuan yang melarangnya. Selanjutnya untuk kata *thayyib* berarti lezat, baik, sehat, menentramkan dan paling utama dalam konteks makanan *thayyib* berarti makanan tidak kotor dari zatnya atau rusak (kadaluarsa), atau tercampur benda najis (Girindra, 2008).

Majelis Ulama Indonesia (2010), menjelaskan bahwa di dalam hukum Islam perkara haram terbagi manmade dua antara lain haram *li-zatih* dan haram *li-gairih*. Haram *li-zatih* merupakan substansi bendanya tersebut diharamkan oleh agama, sedangkan haram *li-gairih* substansi bendanya halal namun cara penanganan atau memperolehnya tidak dibenarkan oleh ajaran Islam.

Makanan halal harus memenuhi syarat-syarat yang telah ditentukan dalam hukum Islam. Menurut Girindra (1998) syarat-syarat makanan halal menurut hukum Islam tersebut antara lain:

- a. Tidak mengandung babi dan bahan berasal dari babi
- b. Tidak mengandung khamar dan produk turunannya
- c. Semua bahan asal hewan harus berasal dari hewan halal yang disembelih menurut tata cara syari'at Islam
- d. Tidak mengandung bahan-bahan lain yang diharamkan atau tergolong najis seperti: bangkai, darah, bahan-bahan yang berasal dari organ manusia, kotoran dan lain sebagainya
- e. Semua tempat penyimpanan, penjualan, pengolahan, pengelolaan dan alat transportasi untuk produk halal tidak boleh digunakan untuk babi atau barang

tidak halal. Jika pernah digunakan untuk babi atau tidak halal lainnya dan kemudian digunakan untuk produk halal, maka terlebih dahulu harus dibersihkan sesuai dengan cara yang diatur menurut syari'at Islam. Penggunaan fasilitas produksi untuk produk halal dan tidak halal secara bergantian tidak diperbolehkan

Al-qur'an telah menegaskan bahwa makanan dan minuman yang diharamkan meliputi bangkai, darah, babi, binatang yang disembelih dengan menyebut nama selain Allah SWT, dan khamr atau minuman yang memabukkan. Bahan-bahan haram tersebut banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku, bahan tambahan atau bahan penolong pada berbagai produk olahan, karena dianggap lebih ekonomis.

## 2.8 Metode Analisis Kelayakan Finansial

### 2.8.1 *Net Present Value* (NPV)

NPV digunakan untuk mengetahui apakah suatu usaha layak dijalankan atau tidak, dengan mengurangkan antara *present value* (nilai saat ini) dan aliran kas bersih operasional atas proyek investasi selama umur ekonomis termasuk terminal *cashflow* dengan *initial cashflow* (*initial investment*). Metode NPV yaitu menghitung selisih nilai sekarang penerimaan kas bersih dari investasi yang diperlukan (Suratman, 2000).

Menurut Kasmir dan Jakfar (2008), NPV merupakan perbandingan antara PV kas bersih (*PV of proceed*) dengan PV investasi (*capital outlays*) selama umur investasi. Analisis NPV dilakukan untuk melihat bagaimana nilai investasi dengan mempertimbangkan perubahan nilai mata uang. NPV merupakan perbedaan antara nilai sekarang dari keuntungan dan biaya (Sudong, 2002).

### 2.8.2 *Net Benefit-Cost Ratio* (*Net B/C*)

Net B/C merupakan perbandingan antara *net benefit* yang telah didiskon positif dengan net benefit yang telah didiskon negative. B/C Ratio merupakan rasio aktivitas dari jumlah nilai sekarang penerimaan dengan nilai sekarang pengeluaran investasi selama umur investasi (Ibrahim, 2003). Menurut Gray

(2005), Net B/C merupakan angka perbandingan antara jumlah present value yang positif dengan jumlah value negatif.

#### 2.8.3 *Internal Rate of Return (IRR)*

Penentuan layak atau tidak layaknya suatu usulan proyek investasi adalah dengan cara membandingkan antara IRR dengan tingkat keuntungan yang diharapkan atau diisyaratkan (Suratman, 2002). Menurut Umar (2005), metode tersebut digunakan untuk mencari tingkat bunga yang menyamakan nilai sekarang dari arus kas yang diharapkan di masa datang, atau penerimaan kas dengan pengeluaran investasi awal. IRR merupakan alat untuk mengukur tingkat pengembalian hasil intern (Kasmir dan Jakfar, 2008).

#### 2.8.4 *Payback Period (PP)*

*Payback period* adalah suatu periode yang diperlukan untuk menutup kembali pengeluaran investasi dengan menggunakan aliran kas (Umar, 2005). Menurut Suratman (2002), penentuan layak atau tidak layaknya usulan proyek investasi, cukup membandingkan antara waktu pengembalian jumlah dana untuk investasi dengan umur ekonomi proyek. PP salah satu teknik yang dapat digunakan untuk penilaian terhadap jangka waktu (periode) pengembalian investasi suatu proyek atau usaha (Kasmir dan Jakfar, 2008).

Analisis PP bertujuan untuk mengetahui seberapa lama (periode) investasi dapat dikembalikan saat terjadinya kondisi titik impas. PP digunakan untuk mengetahui apakah rencana suatu investasi tersebut layak secara ekonomis atau tidak, diperlukan suatu ukuran atau kriteria tertentu, dalam *payback period* investasi dikatakan layak jika  $K$  (lamanya periode pengembalian  $\leq n$  (umur investasi) (Giatman, 2011).

#### 2.8.5 *Break Event Point (BEP)*

BEP adalah suatu titik dimana jumlah produksi atau penjualan yang harus dilakukan agar biaya yang dikeluarkan dapat tertutupi kembali atau dimana profit yang diterima UKM adalah nol (Sudong, 2002). Menurut Fatah (2009) BEP merupakan suatu keadaan atau penjualan usaha dimana jumlah pendapatan sama besarnya dengan pengeluaran dengan kata lain perusahaan tidak mendapat laba atau rugi.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan April 2017 sampai Januari 2018.

### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.2.1 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang rebon kering yang diperoleh dari pasar Tanjung Kabupaten Jember, kultur *L. plantarum* FNCC 0020, *L. bulgaricus* FNCC 0041, *S. thermophilus* FNCC 0040, dan Enzim papain dengan aktifitas 30.000 USP-U/mg pada casein, pH 6-7, 40°C (Merck). Selanjutnya bahan kimia yang digunakan untuk analisis yaitu pepton (*Oxoid*), alkohol 70%, aquades,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $FeSO_4 \cdot 4H_2O$ , natrium asetat, NaCl, Tween 80, yeast extract, glucose, selenium (Merck, PA),  $H_2SO_4$  (Merck, PA), asam borat ( $H_2BO_3$ ) 4% (Merck, PA), indikator *methyl red* dan *methyl blue*, NaOH (Merck),  $AgNO_3$ , larutan buffer pH 4 dan 7,  $CaCO_3$ , *Mann Rogosa Sharp* agar (MRSA-Merck), dan HCl.

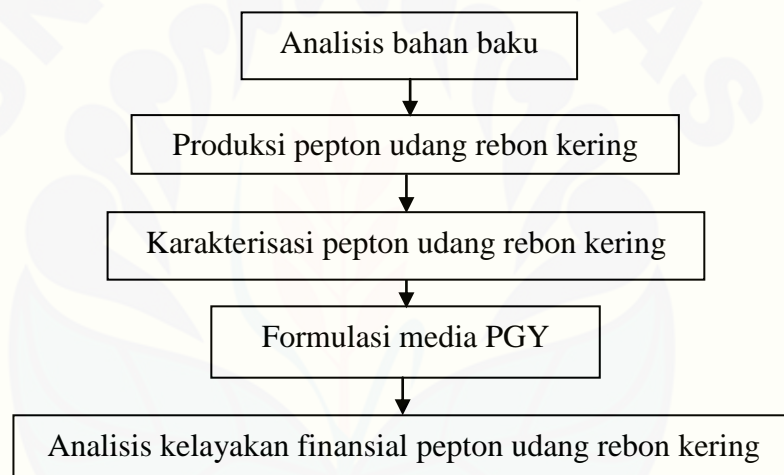
#### 3.2.2 Alat

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (Ohaus), *shaker waterbath* (GFL 1083), dan sentrifuse. Selanjutnya alat untuk analisis diantaranya oven, autoclafe, pH meter Jen Way tipe 3320 (Jerman), cawan petri, *blender* merek miyako, *laminer air flow* merek Crume SA 9005-FL, Inkubator 37°C merek Heracus Instruments–tipe B-6200, *vortex* Maxi Max 1 Type 16700, *colony counter*, spektrofotometer (Prim-Scoman), Alat HPLC, labu kjeldhal, Erlenmeyer, beaker glass, dan lemari pendingin.

### 3.3 Rancangan Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu perlakuan lama hidrolisis (1,5 jam, 3 jam, 4,5 jam) dan dua kali ulangan. Penelitian dimulai dengan tahap persiapan analisis bahan baku meliputi kadar protein dan kadar air pada udang rebon kering. Optimasi pembuatan pepton udang rebon kering dengan berbagai perlakuan dan dilanjutkan karakterisasi pepton udang rebon kering dengan berbagai parameter. Setelah itu dilanjutkan pada uji coba pertumbuhan bakteri. Pepton yang dihasilkan diaplikasikan pada pembuatan starter. Adapun rancangan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



**Gambar 3.1** Rancangan penelitian

#### 3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan pertama yaitu melakukan analisis bahan baku berupa udang rebon kering. Analisis yang dilakukan yaitu mengukur kadar air dan kadar protein pada tepung udang rebon kering. Tahapan selanjutnya produksi pepton udang rebon kering dengan hidrolisis enzimatis. Pembuatan pepton diawali pengilingan udang rebon kering menggunakan blender dengan perbandingan air dan udang rebon kering (5:1). Bubur udang rebon kering dihidrolisis menggunakan enzim papain pada *shaker waterbath* dengan variasi lama hidrolisis (1,5 jam, 3 jam, 4,5 jam) dengan suhu

optimum enzim papain 40 °C. Inaktivasi enzim dilakukan pada suhu 85°C selama 15 menit. Hidrolisat udang rebon kering dilakukan pemisahan padatan dan cairan dengan sentrifugasi 6.000 rpm selama 15 menit, sehingga didapatkan pepton cair (Balitkan, 1999). Diagram alir produksi pepton udang rebon kering dapat dilihat pada Gambar 3.2.

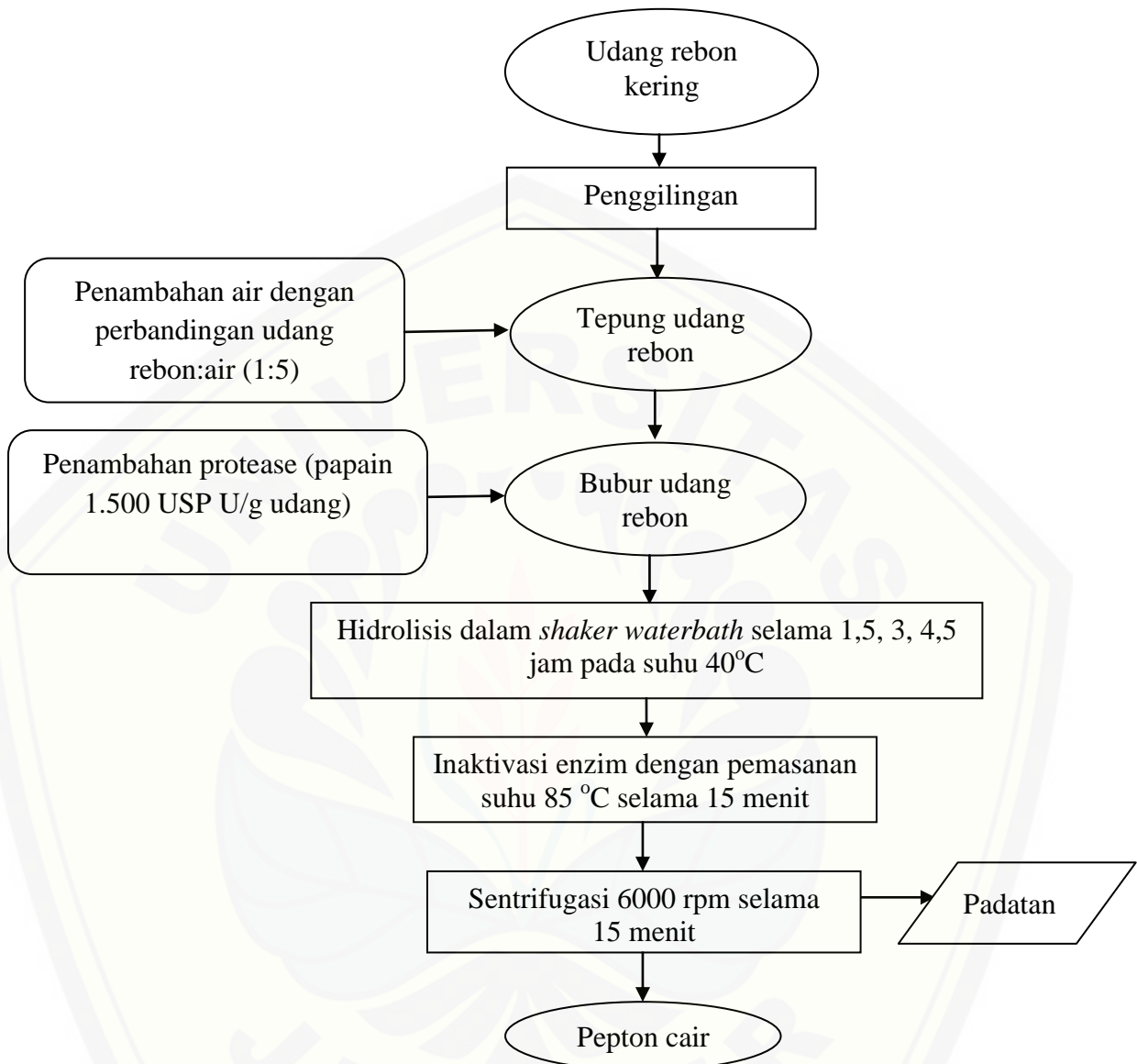
Tahapan berikutnya yaitu uji efektifitas pepton udang rebon kering pada pertumbuhan bakteri asam laktat. Pepton udang rebon di ujicobakan pada bakteri asam laktat dengan membandingkan pepton komersial yang ada di pasaran. Setelah itu dihitung seberapa banyak bakteri yang tumbuh pada media tersebut. Media yang digunakan yaitu media PGY-B. Komposisi media PGY-B dapat dilihat pada Tabel 3.1.

**Tabel 3.1** Komposisi media *Peptone-Glucose-Yeast* (PGY) broth

<b>Bahan</b>	<b>Konsentrasi /L</b>
<i>Yeast extract</i>	10 g
<i>Glucose</i>	10 g
Pepton	5 g
MnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0,01 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 g
FeSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,01 g
Natrium Asetat	2 g
NaCl	0,01 g
Tween 80	0,5 ml

Pembuatan media PGY-B yaitu dengan melarutkan mineral terlebih dahulu ke dalam akuades selanjutnya dipanaskan. Setelah agak larut, ditambahkan *yeast extract*, pepton dan glukosa kemudian dilanjutkan pemanasan sampai larut dan didapatkan PGY-B.





**Gambar 3.2** Produksi pepton cair udang rebon kering (Balitkan, 1999 di modifikasi)

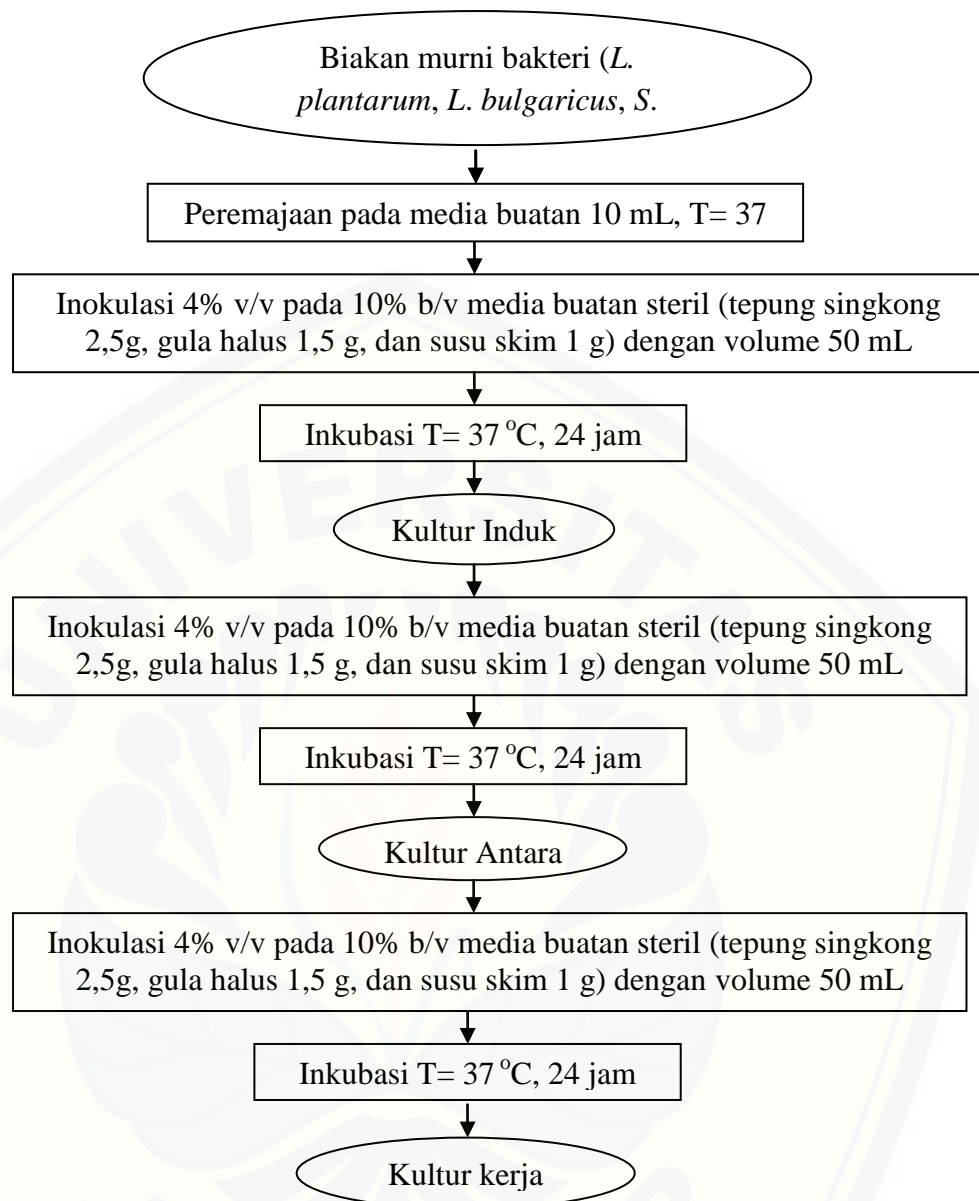
Tahapan berikutnya yaitu pembuatan starter. Pembuatan starter diawali dengan peremajaan kultur *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* masing-masing pada media buatan 10 mL pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kultur hasil peremajaan sebanyak 4% diinokulasikan pada 10% b/v larutan media steril yang terdiri dari tepung singkong 2,5 g, gula halus 1,5 g, dan susu skim 1 g dengan volume 50 mL. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, sehingga

didapatkan kultur induk. Dari kultur induk sebanyak 4% v/v diinokulasikan pada larutan media buatan steril untuk dijadikan kultur antara. Setelah itu dari kultur antara sebanyak 4% diinokulasikan kembali sebagai kultur kerja (Setiawan, 2015).

Kultur kerja yang memenuhi syarat untuk siap dijadikan starter yaitu memiliki populasi BAL  $\geq 10^8$  cfu/ml (BAM, 2002). Diagram alir pembuatan starter dapat dilihat pada Gambar 3.3. Selanjutnya untuk kombinasi perlakuan pada pembuatan starter dapat dilihat pada Tabel 3.2.

**Tabel 3.2** Kombinasi perlakuan pada pembuatan starter

Jenis Bakteri (A)	Jenis Pepton (B)	
	Pepton Komersial	Pepton Buatan
<i>L. plantarum</i>	A1B1	A1B2
<i>L. bulgaricus</i>	A2B1	A2B2
<i>S. thermophilus</i>	A3B1	A3B2
<i>Starter campuran</i>	A4B1	A4B2



**Gambar 3.3.** Diagram alir penyiapan starter MOCAF (Setiawan, 2015)

### 3.3.3 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini antara lain analisis bahan baku yang meliputi kadar air udang rebon kering metode Thermogravimetri (AOAC, 2005) dan kadar protein udang rebon kering (AOAC, 2005). Selanjutnya karakterisasi pepton cair udang rebon kering yang meliputi rendemen pepton, Total Nitrogen Terlarut dan Total Nitrogen Bahan (NTT/NTB) (AOAC, 2005), protein terlarut (Sudarmadji, 1997), profil asam amino menggunakan HPLC.

Pepton yang telah dikarakterisasi dilakukan uji pada pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAM, 2001). Selain itu pepton diaplikasikan dalam pembuatan starter dan diuji pertumbuhan bakterinya. Setelah itu dilakukan uji kelayakan finansial yang meliputi NPV (*Net Present Value*) (Pasaribu, 2012), IRR (*Internal Rate of Return*) (Pasaribu, 2012), BC ratio (*Benefit Cost Ratio*) (Pasaribu, 2012), PBP (*Payback Period*) (Pasaribu, 2012), dan BEP (*Break Event Point*) (Pasaribu, 2012).

### 3.3.4 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh diolah menggunakan analisis secara deskriptif. Data yang dihasilkan selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel atau grafik disertai *error bars* untuk memudahkan intepretasi.

## 3.4 Prosedur Analisis

### 3.4.1 Kadar Air Tepung Udang Rebon Kering

Pengukuran kadar air menggunakan metode thermogravimetri (AOAC, 2005) dengan mengoven botol timbang terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105 °C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan menimbang sebagai berat (A). Penimbangan sebanyak 2 g tepung udang rebon kering dalam botol timbang yang sudah kering sebagai berat (B) kemudian di oven sampel pada suhu 100-105 °C selama 6 jam selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan menimbangnya sebagai berat (C). Penimbangan dilakukan secara berulang hingga didapatkan bobot yang konstan. Kadar air dapat dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan : A = bobot botol timbang kosong (g)

B = bobot botol dan sampel (g)

C = bobot botol dan sampel setelah di oven (g)

### 3.4.2 Kadar Protein Tepung Udang Rebon Kering

Pengukuran kadar protein menggunakan metode AOAC (2005) dilakukan udang rebon kering dilakukan menggunakan metode mikro Kjeldahl. Tahap-tahap yang dilakukan dalam analisis protein, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Tepung udang rebon kering ditimbang sebanyak 0,25 g serta 0,25 g tablet kjeltab selenium dan 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dimasukkan ke dalam la Kjeldahl 100 mL. Sampel udang didestruksi pada suhu 410°C selama kurang lebih 1 jam sampai larutan jernih lalu didinginkan. Setelah dingin, ke dalam labu Kjeldahl ditambahkan 50 ml aquades dan 20 mL NaOH 40% kemudian dilakukan proses destilasi. Hasil destilasi ditampung dalam Erlenmeyer 125 mL yang berisi campuran 10 mL asam borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 2% dan 2 tetes *indicator bromcherosol green-methyl red* yang berwarna merah muda. Setelah volume destilat mencapai 10 mL dan berwarna hijau kebiruan, maka proses destilasi dihentikan. Destilat selanjutnya dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Volume HCl terpakai dalam titrasi dibaca dan dicatat. Larutan blanko dianalisis seperti sampel. Kadar protein dihitung dengan persamaan sebagai berikut.

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{\text{mL HCl} \times \text{N HCl} \times 14 \times \text{FK}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

N HCl : 0,1N

FK : Faktor konversi = 6, 25

### 3.4.3 Rendemen pepton udang rebon kering

Rendemen pepton udang kering dihitung dari jumlah udang rebon kering dan pepton yang telah dikeringkan. Rendemen diperoleh pembagian dari jumlah pepton udang rebon kering yang dihasilkan dibagi dengan udang rebon kering dan dikalikan 100 persen.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A : Berat Pepton (g)

B : Berat Udang (g)

#### 3.4.4 Pengukuran Derajat Keasaman / pH Pepton Udang Rebon Kering

Pengukuran pH menggunakan metode AOAC (2005) dilakukan dengan pH meter. Sampel berupa cairan pepton udang rebon dengan masing-masing perlakuan. Sampel yang berbentuk cairan diambil sekitar 50 mL lalu diaduk hingga rata kemudian diukur pHnya. Alat pH meter yang telah dinyalakan dan distabilkan, dimana sebelumnya distandarisasi dengan menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dan dikeringkan dengan tissue kemudian dicelupkan dalam sampel. pH sampel langsung dapat diketahui dengan membaca angka yang ditunjukkan oleh alat tersebut.

#### 3.4.5 Uji Protein Terlarut Pepton Udang Rebon Kering

Uji protein terlarut diukur menggunakan Metode Lowry (Sudarmadji, 1997). Pepton cair udang rebon kering di pipet sebanyak 0,125 ml direaksikan dengan 2,5 ml reagen *Mix Lowry* dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,25 ml follin dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan dengan akuades sampai volume 5 ml. selanjutnya ditera absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar BSA untuk dihitung kadar protein terlarutnya.

#### 3.4.6 Analisis Total BAL

##### a. Analisis kenampakan BAL pada media PGY-B

Analisis kenampakan BAL pada PGY-B dilakukan dengan melihat tingkat kekeruhan pada media. Bakteri asam laktat yang telah diremajakan ditumbuhkan pada PGY-B dengan inokulasi 1 ose bakteri kemudian dimasukkan ke dalam media PGY-B. Setelah itu di inkubasi dalam kondisi anaerobik pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 48 jam.

##### b. Analisis viabilitas BAL di media PGY A modifikasi

Penentuan total BAL dilakukan dengan menggunakan metode BAM (2001) dengan hitungan cawan. Total BAL pada media PGY-A yaitu sampel dari masing-masing pengenceran ( $10^{-0}$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ) diambil 1 ml dan dimasukkan

kedalam cawan petri steril, kemudian dituang agar ke dalamnya (*pour-plate method*). Media yang digunakan berupa PGY Agar 1% CaCO<sub>3</sub> sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat. Setelah agar memadat, cawan petri diinkubasi dalam kondisi anaerobik pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 48 jam.

#### c. Viabilitas starter MOCAF pada media PGY A3

Pengujian BAL dilakukan dengan mengambil sampel pada starter. Suspensi kultur bakteri dibuat dengan cara 5 ml starter dimasukkan dalam sebuah Erlenmeyer 100 ml berisi 45 ml aquadest steril, lalu diaduk rata sampai homogen. Selanjutnya dari suspensi kultur tersebut diambil 1 ml dan diencerkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril untuk pengenceran

10<sup>-2</sup>, diaduk sampai homogen dan pengenceran dilanjutkan sampai 10<sup>-7</sup>. Sampel suspensi starter dari masing-masing pengenceran (10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup>) diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian dituang agar kedalamnya (*pour-plate method*). Media yang digunakan berupa MRS Agar 1% CaCO<sub>3</sub> sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat. Setelah agar memadat, cawan petri di inkubasi dalam kondisi anaerobik pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 48 jam untuk isolasi bakteri asam laktat.

Setelah di inkubasi selama 24-48 jam, dihitung populasi BAL dengan rumus sebagai berikut. Koloni yang berasal dari BAL akan memberikan area yang jernih di sekitarnya.

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n1) + (0,1 \times n2)] \times d}$$

Keterangan:

N : Jumlah koloni per ml atau per gram

Σ C : Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n2 : Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d : Pengenceran pada cawan pertama yang dihitung

#### 3.4.7 Profil Asam Amino Bubuk Pepton Udang Rebon Kering

Analisis profil asam amino menggunakan *in house method* ICI Instrument Method (1988) dengan cara memasukkan bubuk pepton udang rebon kering yang mengandung 3 mg protein kedalam tabung ulir, tambahkan 1 mL HCl 6 N.

Tabung ulir yang mengandung larutan sampel dialirkan gas nitrogen selama 0,5-1 menit dan tabung segera ditutup. Tabung yang telah tertutup dimasukkan ke dalam oven suhu 110°C selama 24 jam untuk melakukan tahap hidrolisis. Sampel yang telah dihidrolisis, didinginkan pada suhu kamar dan larutan dipindahkan secara kuantitatif ke labu *rotary evaporator*. Tabung ulir dibilas dengan 2 mL HCl 0,01 N sebanyak 2-3 kali. Larutan bilasan digabung ke labu *rotary evaporator*. Sampel dikeringkan dengan *rotary evaporator*. Sampel yang sudah kering ditambah dengan HCl 0,01 N dan sampel siap untuk dianalisis menggunakan HPLC. Selanjutnya sampel yang telah dihidrolisis dilarutkan ke dalam 5 mL HCl 0,01N kemudian disaring dengan kertas milipore. Setelah itu ditambahkan Buffer Kalium Borat pH 10,4 dengan perbandingan 1 : 1. Selanjutnya 50 µl sampel dimasukkan ke dalam vial kosong yang bersih dan ditambahkan 250 µl pereaksi OPA, kemudian dibiarkan selama 1 menit agar derivatisasi berlangsung sempurna. Setelah itu diinjeksikan ke dalam kolom HPLC sebanyak 5 µl kemudian tunggu sampai pemisahan semua asam amino selesai. Waktu yang diperlukan sekitar 25 menit. Kondisi HPLC sebagai berikut:

Kolom : *Thermo Scientific* ODS-2 Hyersil  
 Laju aliran fase mobil : 1 mL/menit  
 Detektor : Fluoresensi  
 Fase mobil : Buffer A dan Buffer B dengan gradien pada Tabel 3.3.

**Tabel 3.3** Gradien fase mobil

Waktu (menit)	Laju aliran fase mobil (mL/menit)	% Buffer B
0.01	1	5
2	1	5
13	1	35
15	1	35
20	1	70
22	1	90
25	1	100
28	1	0
35	1	0



Konsentrasi asam amino (dinyatakan dalam  $\mu\text{mol AA}$ ) dalam sampel

$$= \frac{\text{luas puncak sampel}}{\text{luas puncak standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

$$= \frac{\text{luas puncak sampel}}{\text{luas puncak standar}} \times 0,5 \mu \frac{\text{mol}}{\text{mL}} \times \text{Volume tera (mL)}$$

Persen asam amino dalam sampel adalah:

$$= \frac{\mu \text{ mol AA} \times \text{Mr AA}}{\text{g sampel}} \times 100$$

### 3.4.8 Analisis Kelayakan Finansial

Analisis kelayakan usaha perlu dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh usaha dapat bertahan dan terus berkembang. Metode yang digunakan untuk analisis kelayakan finansial antara lain adalah *Net Present Value* (NPV), *Internal Rate of Return* (IRR), *Pay Back Periode* (PBP), *Break Even Point* (BEP), dan *Net Benefit Cost Rasio* (Net B/C) (Pasaribu, 2012).

a. NPV (*Net Present Value*)

$$NPV = \sum_{t=1}^n \frac{B_t - C_t}{(1 - i)^t}$$

Keterangan:

B = keuntungan

C = biaya

i = *discount rate* (suku bunga)

t = periode

n = umur usaha

Kriteria penilaian:

Jika  $NPV > 0$ , maka usaha layak.

Jika  $NPV = 0$ , maka usaha tidak untung dan tidak rugi.

Jika  $NPV < 0$ , maka tidak layak

(Pasaribu, 2012)

b. IRR (*Internal Rate of Return*)

$$IRR = i' + \frac{NPV'}{NPV' - NPV''} (i'' - i')$$

Keterangan:

NPV' = NPV yang masih positif

NPV'' = NPV yang negatif

i' = discount rate yang masih memberi NPV positif

i'' = discount rate yang memberikan NPV negatif

Kriteria:

Jika  $IRR >$  tingkat bunga berlaku, maka proyek dinyatakan layak.Jika  $IRR <$  tingkat bunga berlaku, maka proyek dinyatakan tidak layak

(Pasaribu, 2012).

c. BC ratio (*Benefit Cost Ratio*)

$$B/C \text{ ratio} = \frac{\sum_{t=1}^n \frac{Bt}{(1+i)^t}}{\sum_{t=1}^n \frac{Ct}{(1+i)^t}}$$

Keterangan:

B = keuntungan

C = biaya

i = *discount rate* (suku bunga)

t = periode

Kriteria:

BC ratio  $>$  1: usaha layak karena memberikan keuntungan

BC ratio = 1: usaha tidak untung dan tidak rugi

BC ratio  $<$  1: usaha tidak layak karena mengalami kerugian

(Pasaribu, 2012)

d. PBP (*Payback Period*)

$$PBP = \frac{\text{Nilai Investasi}}{\text{Pendapatan}} \times 1 \text{ tahun}$$

Kriteria:

PBP  $>$  periode maksimum: usaha tidak layakPBP  $<$  periode maksimum: usaha layak

(Pasaribu, 2012)

e. BEP (*Break Event Point*)

BEP dilakukan dengan dua cara, yaitu atas dasar harga jual rupiah dan atas produksi (Kadariah, 1999):

BEP atas dasar harga jual:

$$BEP_{(Rp)} = \frac{FC}{1 - \frac{VC}{S}}$$

BEP atas dasar produksi:

$$BEP_{(V)} = \frac{FC}{P - V}$$

Keterangan:

FC = Biaya tetap (Rp)

VC = Biaya tak tetap (Rp)

C = Produksi (kg)

P = Unit penjualan (Rp)

S = Penjualan total (Rp)

V = Biaya variabel per satuan (Rp)

(Pasaribu, 2012)

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Lama hidrolisis 4,5 jam dapat meningkatkan rendemen berbasis bahan baku, rendemen berbasis protein, protein terlarut, NTT/NTB, dan jumlah mikroba serta menurunkan nilai pepton cair pH 5,5-7,05. Pepton udang rebon kering dapat digunakan sebagai pengganti pepton komersial untuk pertumbuhan bakteri asam laktat.

Karakteristik pepton udang rebon kering yaitu protein terlarut  $23,0820 \pm 0,2524$ - $56,59 \pm 0,1963$  mg/ml, rendemen berbasis bahan baku 4,41-12,86 %, rendemen berbasis protein 14,3644-42,2644 %, NTB/NTT  $0,126 \pm 0,0063$ - $0,1399 \pm 0,0003$ , dan populasi BAL pada starter MOCAF  $1,75 \times 10^9$ - $2,26 \times 10^8$  cfu/ml. Usaha pepton udang rebon kering layak untuk dijalankan karena semua komponen kelayakan finansial telah memenuhi kriteria.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait optimasi hidrolisis pepton udang rebon kering pada penggunaan enzim campuran yang bersifat endopeptidase dengan eksopeptidase. Hal ini dikarenakan rendemen yang dihasilkan masih 60%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2008. *Bactopeptone*. <http://www.vgdusa.com/Difco-Bacto-Peptide.htm> (diakses pada tanggal 12 Juli 2016)
- Anggraini, A., dan Yuniarta. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Hidrolisis Enzim Papain Terhadap Sifat Kimia, Fisik, dan Organoleptic Sari Edamame. *Jurnal Pangan dan Agroindustry* Vol. 3 No 3.
- AOAC. 2005. *Official Method Of Analysis Associated Of Official Agricultural Chemists*. Washington D.C. USA.
- Aspmo SI, Horn SJ, Eijsink VGH. 2005. Use of Hydrolysates from Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) Viscera as Complex Nitrogen Source for Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 248: 65-68.
- Astawan, M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2001. *Aerobic Plate Count*. U.S. Food and Drugs Administration.
- [BAM] Bacteriological Analytical Manual. 2002. *GRAS Exemption Claim and Exemption Notification for the Use in Infant Formula of Bifidobacterium, Lactobacillus and Streptococcus thermophilus*. BAM Volume 1 [Online]. [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras\\_notices/grn000049A.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn000049A.pdf). [diakses 12 Agustus 2016]
- Bionutrient Technical Manual. 2006. Bionutrient Technical Manual. <http://bd.com> [diakses 12 Desember 2016]
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2013. *Statistik Perdagangan Luar Negeri Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, and M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Baehaki, A., Shanti, D.L., dan Ahmad R. R. 2015. Hidrolisis Protein Ikan Patin menggunakan Enzim Papain dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisatnya. *JPHPI* Volume 10 No. 3.
- Dufossé L, Broise DLB, Guerard F. 2001. Evaluation of Nitrogenous Substrates Such as Peptones from Fish: A New Methode on Gompertz Modeling of Microbial Growth. *Current Microbiology* 42: 32-39.
- Ernawati. 2010. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kambing Segar. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Esih, P. 2006. *Pengaruh Jenis Presipitan pada Proses Isolasi Enzim Bromelin dari Buah Nanas terhadap Aktivitas Proteolitik Enzim pada Hidrolisis Kasein*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Fachraniah, Dedi, F., Tami, I. 2002. Pembuatan Pepton dari Bungkil Kedelai dan Khamir dengan Enzim Papain untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal. Teknol.dan Industri Pangan* Vol. XIII, No.3
- Fardiaz, D., Andarwulan, Nuri., Wijaya, Hanny, dan Puspitasari, L. 1992. *Petunjuk Laboratorium Teknik Analisis Sifat Kimia dan Fungsional Komponen Pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal PendidikanTinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Fatah, N. 1994. *Evaluasi Proyek Finansial pada Proyek Mikro*. Jakarta: CV. Asona.
- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Mota, M. V, Tavares, P., Pereira, A., & Gonc, M. P. 2007. Preparation of Ingredients Containing an ACE-Inhibitory Peptide by Tryptic Hydrolysis of Whey Protein Concentrates.
- Fitriani, V. 2006. *Getah Sejuta Manfaat*. Jakarta: PT. Trubus Swadaya.
- Girindra. 1993. *Biokimia 2*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Giatman, M. 2011. *Ekonomi Teknik*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Girindra, A. 1998. *Pengukir Sejarah Sertifikasi Halal*. Jakarta: LPPOM MUI
- Giyatmi. 2001. *Prospek Hidrolisat Protein Ikan sebagai Pemer kaya Nutrisi Makanan*. Bogor: IPB.
- Gray, C., Simanjuntak, P., Sabur, L.K., and Maspaitella, F.P.L. 2005. *Pengantar Evaluasi Proyek*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Gul, S., Mellor, G.W., Thomas, E.W., Brocklehurst, K. 2006. Temperature-dependences of the kinetics of reactions of papain and actinidin with a series of reactivity probes differing in key molecular recognition features. *Biochemical Journal*, 396:17-21.
- Hanum, Z. 2010. Kemampuan Susu Fermentasi *Lactobacillus plantarum* Menghambat *Salmonella typhymurium* Secara in Vitro. *Agripet* Vol 10, No. 2.
- Hasnan, M. 1991. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain Selama proses Hidrolisis Kecap Ikan. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Carang leptolepis*) dengan menggunakan Enzim Papain. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hjortmo S, Patring J, Andlid T. 2008. Growth Rate and Medium Composition Strongly Affect Folate Content in *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Food Microbiol*. 123:93-100.
- Hoa, N.T., Huong, T.T.X., Minh, N.P., dan Dao, D.T. 2014. Investigation of Enzymatic Optimation by Flavourzyme and Cellulast for Soy Protein Hydrolysate Powder. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry* Vol. 3(3) ISSN: 2277-4688.
- Haslaniza, H., Maskat, M. Y., Wan Aida, W. M., dan Mamot, S. 2010. The Effects of Enzyme Concentration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipitate from Cockle (*Anadara granosa*) Meat Wash Water. *International Food Research Journal*.17: 147-152.
- Hoa, N.T., Minc, N.P., dan Dao, D.T. 2014. Performance Enhancing Soy Milk Extraction by Flavourzyme. *International Journal of Scientific & Technology Research* Vol. 3 ISSN 2277-4616.
- Hutabarat, S & Evans, S. M. 1986. *Kunci Identifikasi Zooplankton*. Jakarta: UI Press.
- Ibrahim, H. dan M. Yacub. 2003. *Studi Kelayakan Bisnis Edisi Revisi*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Kasmir dan Jakfar. 2008. *Studi Kelayakan Bisnis, Edisi kedua*. Jakarta: Kencana Prenada Media Group.
- Kristinsson, H. G. dan Rasco B. A. 2000. Biochemical and Functional Properties of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Muscle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases. *Journal of Agrifood Chemistry* 48:657-666.
- Kurbanoglu EB and Algur OF. 2002. Use of Ram Horn Hydrolysate as Peptone for Bacterial Growth. *Turkish Journal of Biology* 26: 115-123.
- Lehninger. 2005. *Dasar-dasar Biokimia I*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Loli, B., Sukirno, dan Edison. 2015. *Ekstraksi Pepton dari Limbah Pengolahan Ikan Cunang (Congresox talabon) sebagai Nutrisi pada Medium Pertumbuhan Mikroorganisme*. Riau: Universitas Riau.
- LPPOM-MUI. 2008. *Panduan Umum Sistem Jaminan Halal LPPOM-MUI*. Jakarta: LPPOM-MUI.
- Majelis Ulama Indonesia. 2010. *Himpunan Fatwa Majelis Ulama Indonesia*. Jakarta: MUI.

- Martone CB, Borla OP, dan Sánchez JJ. 2005. Fishery By-Product as a Nutrient Source for Bacteria and Archaea Growth Media. *Biores Technol.* 96:383-387.
- Masthu. 1995. *Makanan Indonesia dalam Pandangan Islam*. Jakarta: Kantor Menteri Negara Urusan Pangan RI.
- M. Bassompierre. 1997. Invitro Protein Digestion. *Ribarstvo*. 137-145.
- Mielech, A.M. 2014. Nidovirus Papain-like Proteases: Multifunctional Enzymes with Protease, Deubiquitinating and Delsglating Antivities. *Virus Research* 194. P. 184-190.
- Muchtadi, T.R. 1989. *Teknologi Proses Pengolahan Pangan*. PAU Pangan dan Gizi, IPB Bogor.
- Muchtadi, D., Palupi, N.S., dan Astawan, M. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan*. Bogor: PAU IPB.
- Nielsen, S. 2010. *Food Analysis*. Fourth Edition. USA: Springer.
- Nielsen, P. M. 1997. *Functionality of protein Hydrolysates*. Di dalam *Food Proteins and Their Applications*, S. Damodaran, dan A. Paraf Marcel Dekker, New York. Pp: 443-472.
- Nilsang S, Lertsiri S, Suphantharika M, Assavanig A. 2005. Optimization of Enzymatic Hydrolysis f FiSh Soluble Concentrate by Commercial Protease. *Journal of Food Engineering* 70: 571-578.
- Nontji A.1986. *Laut Nusantara*. Jakarta: Penerbit Djambatan.
- Nurhayati T, Salamah E, Amalia E. 2011. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. *Akuatik* 5(1):13-16.
- Nurhayati, T., Desniar, dan Made, S. 2013. Pembuatan Pepton secara Enzimatis Menggunakan Bahan Baku Jeroan Ikan Tongkol. *JPHPI* Vol. 16, No. 1
- Nurhayati, T., Bustamil, I., Pipih, S., Ella, S., Risa, N.F., Eska, R.W.A. 2015. Karakterisasi Pepton Ikan Hasil Tangkap Sampingan Tidak Layak Konsumsi sebagai Sumber Nutrien Pertumbuhan Mikroorganisme. *J. Teknol. Pert.* Vol 25 (1):68-77.
- Okuzumi, M. Dan Fuji. 2000. *Nutritional and Functional Properties of Squid and Cutlefish*. Japan: National Cooperative Association of Squid Processor.
- Ovissipour MR, Abedian AM, Motamedzadegan A, Rasco B, Safari R, Shahiri H. 2008. The Effect of Enzymatic Hydrolysis on Amino Acid Composition of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Viscera Protein Hydrolysate. *18<sup>th</sup> National Congress on Food Technology* 18:1-3.



- Pantaya, D., Pamungkas, D., Merry, M.D.U., Suci, W., dan Anang, F. 2016. Optimasi Produksi Peptone dari Bungkil Kedelai untuk Media Produksi Yeast. *Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat* ISBN 978-602-14917-2-0.
- Pasaribu, A. M. 2012. *Perencanaan dan Evaluasi Proyek Agribisnis*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Persatuan Ahli Gizi Indonesia (PERSAGI). 2009. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Poernomo A dan Buckle AA. 2002. Crude Peptones from Cowtail Ray (*Trygon sephen*) Viscera as Microbial Growth Media. *World J Microbiol Biotech.* 18: 333–340.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Priya, S.P., Jayakumar, Mathai, V., Chintu, dan Babu, S. 2012. Immobilization and Kinetic Studies of Bromelain: A Plant Cysteine Bromelin from Pineapple (*Ananans comosus*) Plant Parts. *Int. J Med Health Sci.*, 1(3): 10-16
- Pusat Data Statistik dan Informasi. 2013. Profil Kelautan dan Perikanan Provinsi Jawa Timur untuk Mendukung Industrialisasi KP. Jakarta: Pusat Data, Statistik dan Informasi.
- Quatravaux, S., Remize, F., Bryckaert, E., Colavizza, D., dan Guzzo, J. 2006. Examination of *Lactobacillus plantarum* Lactate Metabolism Side Effects in Relation to the Modulation of Aeration Parameters. *Journal of Application Microbiology* 101: 903–912.
- Rao, M.B., A.M. Tangsale, M.S. Ghasge and V.V. Deshpande. 1998. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microb. Mol. Biol.Rev.* 62 (3): 597-663.
- Rashinaya, E. 2011. Studi Mutu Sosis Udang Rebong Kering (*Acetes erythraeus*) dengan Pengolahan yang Berbeda Selama Penyimpanan. *Skripsi*. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unversitas Riau.
- Rasyid, S. 2010. *Fiqh Islam*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Saefudin A. 2006. *Enzim*. Cibinong: Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.
- Saputra, D., dan T. Nurhayati. 2013. Produksi dan Aplikasi Pepton Ikan Selar untuk Media Pertubuhan Bakteri. *JPHPI* Vol. 16, No. 3
- Sezonov G, Joseleau-Petit D, D'Arl R. 2007. *Escherichia Coli* Physiology in Luria-Bertani Broth. *J Bacteriol.* 189(23):8746-8749.

- Setiawan, D. 2015. Karakterisasi Tepung Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) Hasil Fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Sudong, Y. dan Tiong, R.L.K. 2002. NPV-At Risk Method in Infrastructure Project Investment Evaluation. *Journal of Construction Engineering and Management* 126 (3).
- Souissi N, Bougatef A, Ellouz YT, Nasri M. 2009. Production of Lipase and Biomass by *Staphylococcus simulans* grown on Sardinella (*Sardinella aurita*) Hydrolysis and Peptone. *African Journal of Biotechnology* 8: 451-457.
- Subagio, A., Hartanti S, Windrati WS, Unus, Fauzi M., Herry B., 2002. Kajian Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Hidrolisat Tempe Hasil Hidrolisis Protease. *Jurnal Teknol dan Industry Pangan*. 13 (3): 204-210.
- Subanar, H. 2009. Manajemen Usaha Kecil. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Suryaningrat, I. B. 2011. *Ekonomi Teknik Teori dan Aplikasi untuk Agroindustri*. Cetakan 1. Jember: Jember University Press.
- Suliyanto. 2010. *Studi kelayakan Bisnis*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Soekarwati. 2003. *Prinsip Ekonomi Pertanian*. Jakarta: Rajawali Press.
- Sudarmadji, S., Haryono B. dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Libert.
- Suratman. 2001. *Studi Kelayakan Proyek: Teknik dan Prosedur Penyusunan Laporan*. Yogyakarta: J & J Learning.
- Syachroni. 2014. Pengaruh Kombinasi Starter Kultur *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* terhadap Karakteristik Mikrobiologis dan Kimiawi pada Minuman Fermentasi. *Skr ipsi*. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasannudin.
- Umar, H. 2005. *Studi Kelayakan Bisnis: Teknik Menaganalisis Kelayakan Rencana Bisnis secara Komprehensif*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Uzeh RE, Akinola SO, Olantope OA. 2006. Production of Peptone from Soya Beans (*Glycine Max* L Merr) and African Locust Beans (*Parkia biglobosa*). *African J Biotechnol*. 5: 1684-1686.
- Ward, O.P. 1983. "Proteinase". In Forgoty, W.M. (ed). *Microbial Enzyme and Biotechnology*. Appl. Sci. Publisher. London.

- Whitaker, J.R. 2003. Effect of Temperature on Rates of Enzyme-Catalyzed Reactions. *Dalam: O.R. Fennema, M. Karel and G.W. Sanderson (eds.). Principles of Enzymology for the Food Science*. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. Atlanta, Georgia.
- Winarno, F. G. 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wijayanti, A.T. 2009. Kajian Penyaringan dan Lama Penyimpanan dalam Pembuatan *Fish Peptone* dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*). *Skripsi*. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Wong, D. M. S. 1995; Reed, G. 1975. *Food Enzymes: Tructural and Mechanism*, Chapman Hall. New York. In Yan, E and V. Ru lee. *Enzymatic Hydrolysis of Prawn Shell Waste for the Purification of Chitin*. Departement of Chemical Engineering Loughborough University.

**Lampiran 4.1 Kadar Air Udang Rebon Kering**

<b>Keterangan</b>	<b>Udang Rebon</b>	
	Ulangan 1	Ulangan 2
Sampel		
Botol	9,6627	9,7724
Botol + Bahan	11,98	11,8906
Berat Penimbangan	11,8137	11,7247
1	11,8074	11,7198
2	11,8074	11,7193
3	11,8073	11,7197
4	11,8033	<b>11,7164</b>
5	<b>11,8</b>	11,7162
6	11,8048	11,715
7	11,7788	11,7789
<b>Kadar Air</b>	<b>7,7677</b>	<b>8,2240</b>
<b>Rata-rata KA</b>	<b>7,9958</b>	
<b>Standar Deviasi</b>	<b>0,2282</b>	

## Lampiran 4.2 Kadar Protein Udang Rebon Kering

Ulangan	Berat Sampel (mg)	KA (%)	Volume titrasi HCl pada sampel (ml)	Volume titrasi HCl pada blanko (ml)	N HCl	Kadar N (%)	Kadar Protein (%)	Rata-Rata	Standar Deviasi
1	107,81	7,9985	9,7	0	0,0758	10,3830	64,8937	65,4953	0,8507
2	108,03	7,9958	9,9			10,5755	66,0969		

Contoh Perhitungan:

$$\% N = \frac{(\text{ml HCl sampel}-\text{Blanko}) \times \text{NHCl} \times 14,008 \times 100 \times \text{fp}}{\text{Berat sampel (mg)}-\text{KA}}$$

$$= \frac{[(9,7-0) \times 0,0753 \times 14,008] \times 100 \times 1}{107,81}$$

$$= 10,8937\%$$

$$\text{Kadar Protein} = \% N \times \text{fk}$$

$$= 10,8937 \times 6,25$$

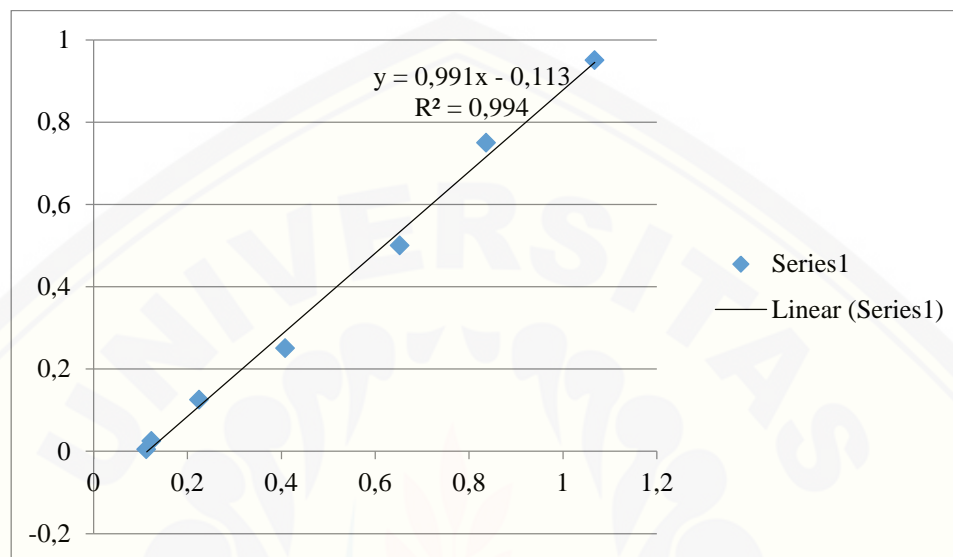
$$= 64,8937\%$$

**Lampiran 4.3 Nilai pH Pepton Udang Rebon Kering**

<b>Lama Hidrolisis (Jam)</b>	<b>Ulangan 1</b>	<b>Ulangan 2</b>	<b>Rata-rata</b>	<b>Standar Deviasi</b>
1,5	7,04	7,06	7,05	0,01414
3	6,72	6,66	6,69	0,04243
4,5	6,12	6,16	6,14	0,02828
12	5,86	5,82	5,84	0,02828
24	5,72	5,66	5,69	0,04243
36	5,56	5,58	5,57	0,01414

**Lampiran 4.4 Protein Terlarut Pepton Udang Rebon Kering**

<b>BSA 5 mg/ml</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Rata-rata Absorbansi</b>	<b>Jumlah BSA (mg)</b>
0	0,025		
1	0,138	0,113	0,005
5	0,149	0,124	0,025
25	0,2505	0,2255	0,125
50	0,4335	0,4085	0,25
100	0,678	0,653	0,5
150	0,862	0,837	0,75
190	1,093	1,068	0,95



Sampel	Nilai Absorban		Protein Terlarut (mg/0,125 ml)		Protein Terlarut (mg/ml)		Rata-rata	Standar Deviasi
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2		
A1	0,701	0,692	0,5815	0,5726	23,2605	22,9035	23,0820	0,2524
A2	0,845	0,836	0,7243	0,7154	28,9721	28,6151	28,7936	0,2524
A3	0,913	0,92	0,7917	0,7987	31,6692	31,9469	31,8081	0,1963

Keterangan:

Faktor Pengenceran: 5

Sampel	Nilai Absorban		Protein Terlarut (mg/0,125 ml)		Protein Terlarut (mg/ml)		Rata-rata	Standar Deviasi
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2		
A1	0,7115	0,72	0,5919	0,6004	47,3539	48,0282	47,6910	0,4768
A2	0,835	0,821	0,7144	0,7005	57,1509	56,0403	56,5956	0,7853
A3	0,683	0,697	0,5637	0,5775	45,0930	46,2036	45,6483	0,7853

Keterangan:

Faktor Pengenceran: 10

#### Lampiran 4.5 Rendemen Pepton Udang Rebon Kering Berbasis Bahan Baku

Sampel	Bahan Baku (g)	Hasil Sampel (g)		Rendemen (%)		Rata-rata Rendemen (%)	Standar Deviasi
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2		
A1	40	1,75	1,78	4,375	4,45	4,4125	0,0530
A2	40	2,83	2,76	7,075	6,9	6,9875	0,1237
A3	40	5,12	5,17	12,8	12,925	12,8625	0,0884



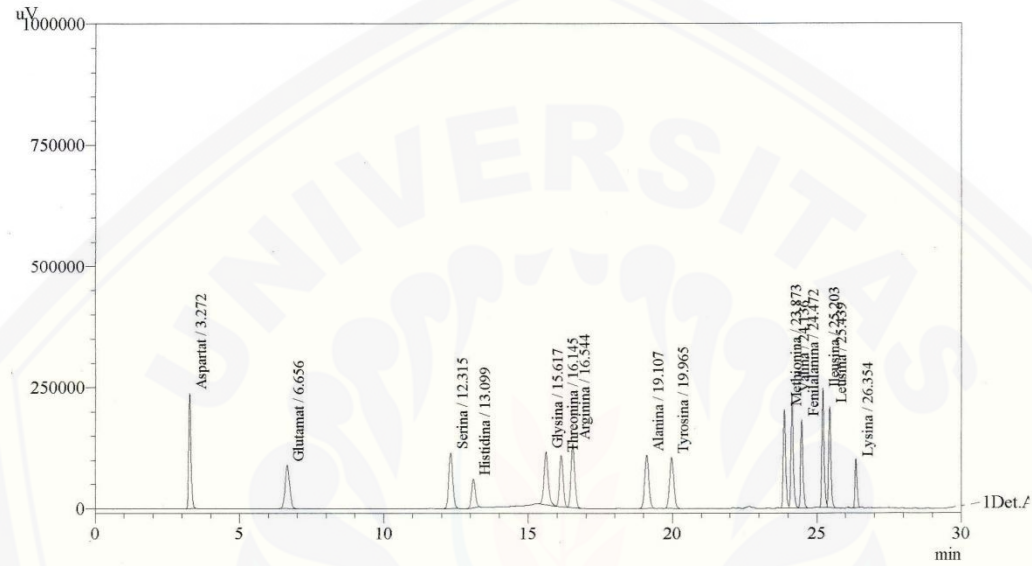
**Lampiran 4.6 Rendemen Pepton Udang Rebon Kering Berbasis Protein**

Lama Hidrolisis (Jam)	Nilai Protein Bahan (mg)	Nilai Protein Terlarut (mg/ml)		Volume (ml)	Nilai Rendemen (%)		Rata-rata	Standar Deviasi
		1	2		1	2		
1,5	24.103,4	23,2605	22,9035	150	14,4754	14,2533	14,3644	0,1571
3	24.103,4	28,9721	28,6151	160	19,2319	18,9949	19,1134	0,1676
4,5	24.103,4	31,6692	31,9469	170	22,3361	22,5320	22,4340	0,1385
12	24.103,4	47,3539	48,0282	180	35,3631	35,8666	35,6148	0,3561
24	24.103,4	57,1504	56,0403	180	42,6789	41,8499	42,2644	0,5862
36	24.103,4	45,093	46,2036	180	33,6747	34,5040	34,0894	0,5865

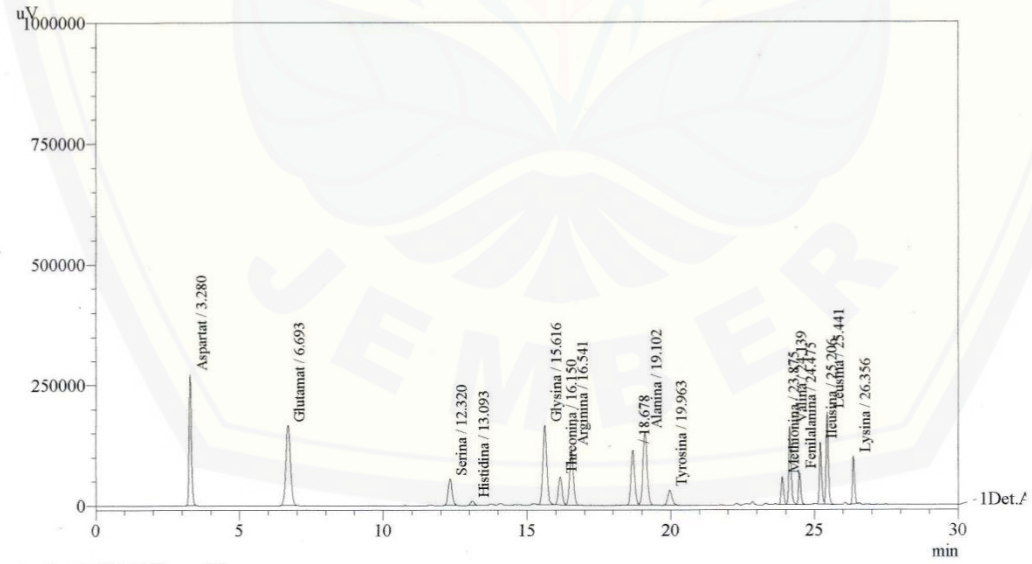
**Lampiran 4.7 Nilai NTT/NTB Pepton Udang Rebon Kering**

Sampel	NTB		NTT		NTT/NTB		Rata-rata	Standar Deviasi
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 1	Ulangan 2		
A1			1,2529	1,1892	0,1311	0,1222	0,1267	0,0063
A2	10,3830	10,5755	1,3166	1,2742	0,1378	0,1309	0,1344	0,0049
A3			1,3379	1,3591	0,1400	0,1397	0,1399	0,0003

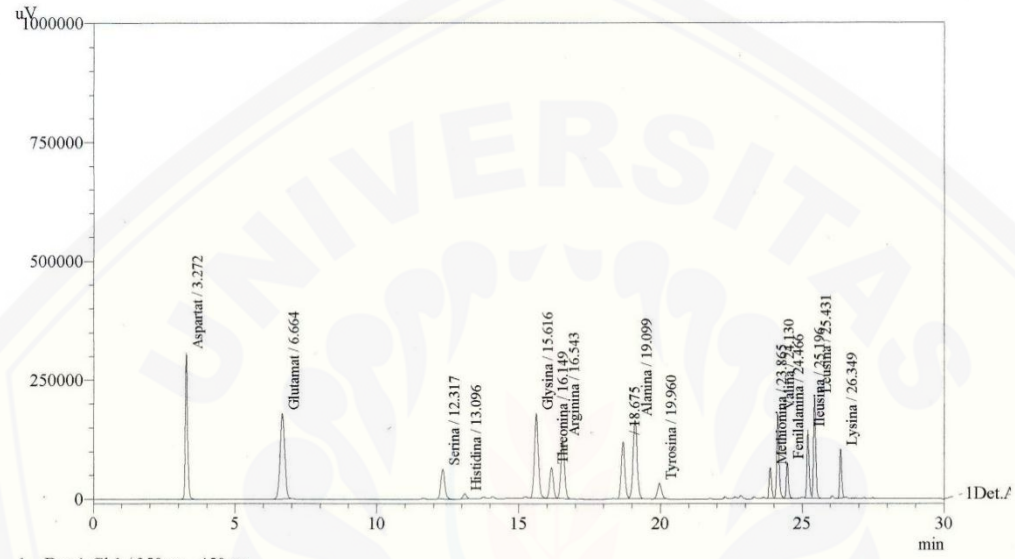
Lampiran 4.8 Kromatogram Profil Asam Amino



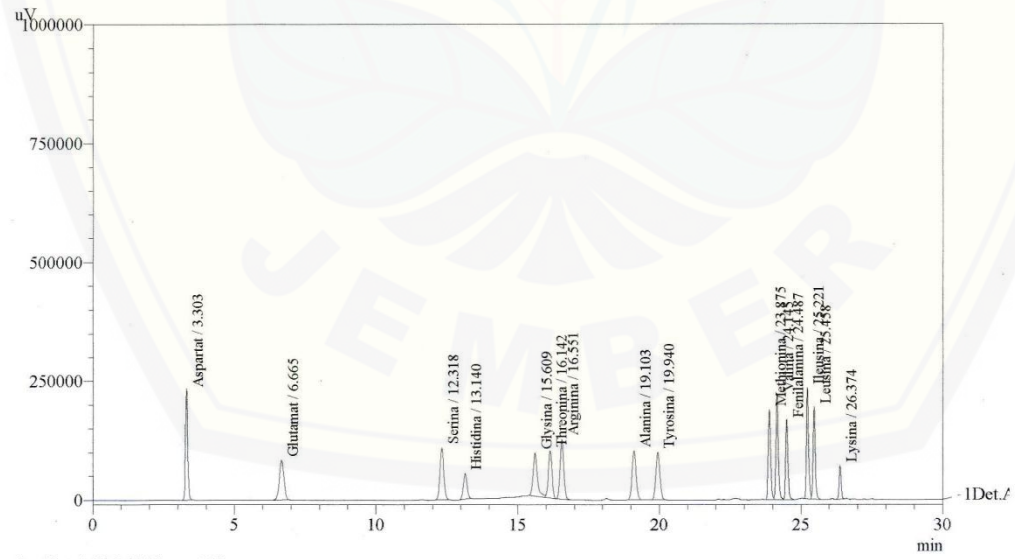
1 Det.A Ch1 / 350nm - 450nm



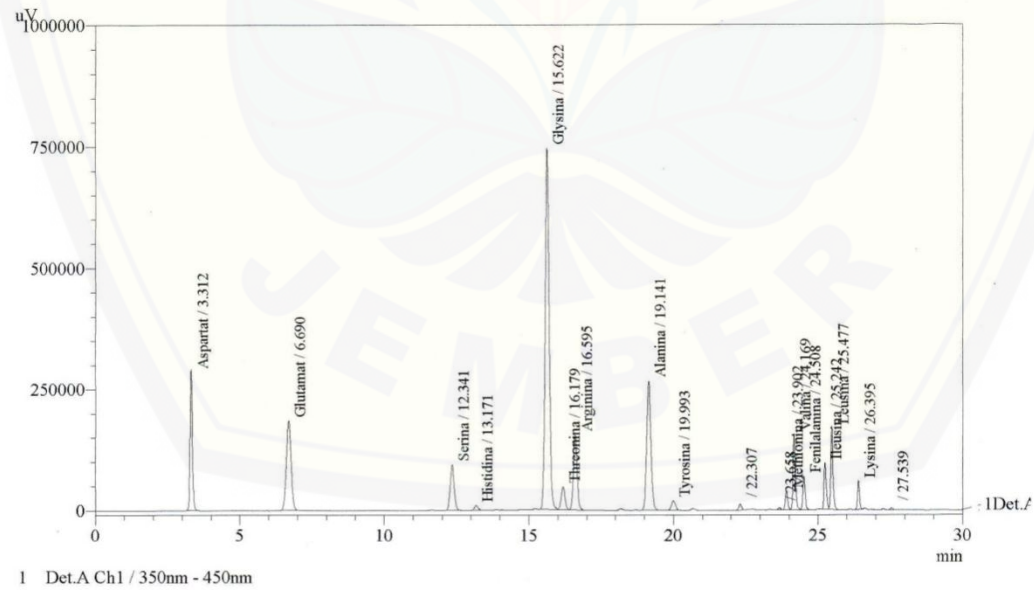
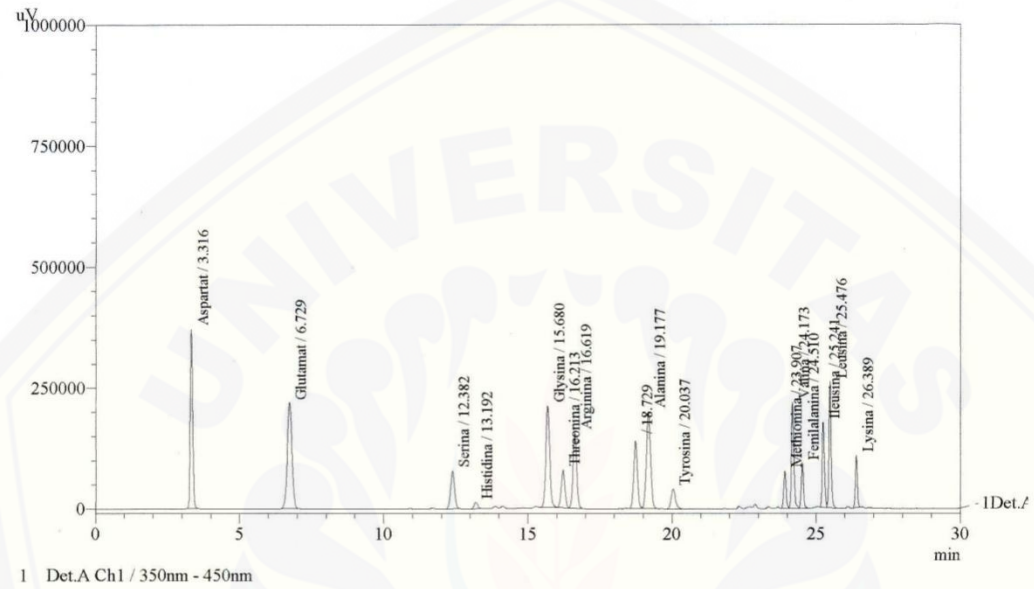
1 Det.A Ch1 / 350nm - 450nm



1 Det.A Ch1 / 350nm - 450nm



1 Det.A Ch1 / 350nm - 450nm



**Lampiran 4.9 Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Media PGY-A modifikasi**

Perlakuan	Pengenceran	Ulangan		Jumlah Populasi	Populasi BAL	Rata-Rata Populasi BAL (cfu/ml)	
		1	2				
PGY tanpa Pepton	10 <sup>0</sup>	2	1	0	0	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	0				
	10 <sup>0</sup>	1	1	0	0	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	0				
PGY dengan Pepton Komersial	10 <sup>0</sup>	66	67	219	99,54	101,36	1,01x10 <sup>2</sup>
	10 <sup>1</sup>	41	45				
	10 <sup>0</sup>	70	68	227	103,18		
	10 <sup>1</sup>	43	46				
PGY dengan pepton lama hidrolisis 1,5 Jam	10 <sup>0</sup>	50	48	164	74,54	71,81	7,18x10 <sup>1</sup>
	10 <sup>1</sup>	31	35				
	10 <sup>0</sup>	41	45	152	69,09		
	10 <sup>1</sup>	32	34				
PGY dengan pepton lama hidrolisis 3 jam	10 <sup>0</sup>	51	53	164	74,54	76,13	7,61x10 <sup>1</sup>
	10 <sup>1</sup>	29	31				
	10 <sup>0</sup>	49	54	171	77,72		
	10 <sup>1</sup>	35	33				
PGY dengan pepton lama hidrolisis 4,5 jam	10 <sup>0</sup>	46	49	162	73,63	75,68	7,57x10 <sup>1</sup>
	10 <sup>1</sup>	34	33				
	10 <sup>0</sup>	51	53	171	77,72		
	10 <sup>1</sup>	31	36				

Contoh perhitungan: PGY dengan pepton komersial

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

$$N_1 = 66 + 67 + 41 + 45$$

$$= 219$$

$$N_1 = 219 / 2,2$$

$$= 99,54$$

$$N_2 = 70 + 68 + 43 + 46$$

$$= 227$$

$$N_2 = 227 / 2,2$$

$$= 103,18$$

Rata-rata populasi BAL =  $(N_1 + N_2) / 2$

$$= (99,54 + 103,18) / 2$$

$$= 101,36$$

$$= 1,01 \times 10^2$$

Perlakuan	Pengenceran	Ulangan		Jumlah Populasi	Populasi BAL	Rata-rata Populasi BAL (cfu/ml)	
		1	2				
PGY tanpa Pepton	10 <sup>0</sup>	2	1	0	0	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	0				
	10 <sup>0</sup>	1	1				
	10 <sup>1</sup>	0	0				
PGY dengan Pepton Komersial	10 <sup>0</sup>	66	67	219	99,54	101,36	1,01x10 <sup>2</sup>
	10 <sup>1</sup>	41	45				
	10 <sup>0</sup>	70	68				
	10 <sup>1</sup>	43	46				
PGY dengan pepton lama hidrolisis 1,5 Jam	10 <sup>0</sup>	41	40	138	62,72	65	6,5 x 10 <sup>1</sup>
	10 <sup>1</sup>	29	28				
	10 <sup>0</sup>	43	46				
	10 <sup>1</sup>	30	29				
PGY dengan pepton lama hidrolisis 3 Jam	10 <sup>0</sup>	47	48	157	71,36	70,22	7,02x 10 <sup>1</sup>
	10 <sup>1</sup>	30	32				
	10 <sup>0</sup>	49	43				
	10 <sup>1</sup>	31	29				
PGY dengan pepton lama hidrolisis 4,5 jam	10 <sup>0</sup>	49	51	164	74,54	72,27	7,23 x 10 <sup>1</sup>
	10 <sup>1</sup>	33	31				
	10 <sup>0</sup>	47	46				
	10 <sup>1</sup>	32	29				

Perlakuan	Pengenceran	Ulangan		Jumlah Populasi		Populasi BAL	Rata-rata Populasi BAL (cfu/ml)
		1	2				
PGY tanpa Pepton	10 <sup>0</sup>	2	1	0	0	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0
	10 <sup>0</sup>	1	1	0	0	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0
PGY dengan Pepton Komersial	10 <sup>0</sup>	<b>66</b>	<b>67</b>	219	99,54	101,36 x10 <sup>0</sup>	1,01x10 <sup>2</sup>
	10 <sup>1</sup>	<b>41</b>	<b>45</b>				
	10 <sup>0</sup>	<b>70</b>	<b>68</b>	227	103,18		
PGY dengan pepton lama hidrolisis 1,5 Jam	10 <sup>1</sup>	<b>43</b>	<b>46</b>	97	44,09	42,04x10 <sup>1</sup>	4,20 x10 <sup>2</sup>
	10 <sup>1</sup>	<b>31</b>	<b>33</b>				
	10 <sup>2</sup>	<b>17</b>	<b>16</b>	88	40		
	10 <sup>1</sup>	<b>30</b>	<b>31</b>	98	44,54		
PGY dengan pepton lama hidrolisis 3 jam	10 <sup>2</sup>	<b>13</b>	<b>14</b>	96	43,63	44,09 x10 <sup>1</sup>	4,41 x10 <sup>2</sup>
	10 <sup>1</sup>	<b>34</b>	<b>33</b>				
	10 <sup>2</sup>	<b>17</b>	<b>14</b>	96	43,63		
PGY dengan pepton lama hidrolisis 4,5 jam	10 <sup>1</sup>	<b>36</b>	<b>37</b>	108	49,09	46,59 x10 <sup>1</sup>	4,66 x10 <sup>2</sup>
	10 <sup>2</sup>	<b>16</b>	<b>19</b>				
	10 <sup>1</sup>	<b>33</b>	<b>35</b>	97	44,09		
	10 <sup>2</sup>	<b>15</b>	<b>14</b>				



**Lampiran 4.10 Populasi Bakteri Asam Laktat pada Starter**

a. Populasi Bakteri Asam laktat pada media buatan (PGY-A3)

Perlakuan	Pengenceran	Ulangan		Jumlah Populasi	Populasi BAL	Rata-rata Populasi BAL (cfu/ml)	
		1	2				
<i>L. plantarum</i>	10 <sup>5</sup>	101	103	397	180,45	179,77x10 <sup>5</sup>	1,79 x 10 <sup>7</sup>
	10 <sup>6</sup>	95	98				
	10 <sup>5</sup>	105	106				
<i>L. bulgaricus</i>	10 <sup>6</sup>	92	91	394	179,09	132,73x10 <sup>6</sup>	1,32 x 10 <sup>8</sup>
	10 <sup>6</sup>	110	112				
	10 <sup>7</sup>	31	32	285	129,55		
	10 <sup>6</sup>	101	104				
	10 <sup>7</sup>	46	48				
<i>S. thermophilus</i>	10 <sup>5</sup>	107	108	383	174,09	175,45x10 <sup>5</sup>	1,75 x 10 <sup>7</sup>
	10 <sup>6</sup>	83	85				
	10 <sup>5</sup>	110	108	389	176,82		
	10 <sup>6</sup>	87	84				
Campuran	10 <sup>6</sup>	111	109	384	174,55	182,50x10 <sup>6</sup>	1,82 x 10 <sup>8</sup>
	10 <sup>7</sup>	81	83				
	10 <sup>6</sup>	117	115	419	190,45		
10 <sup>7</sup>	93	94					

Contoh perhitungan: *L. Plantarum*

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

$$N_1 = 101 + 103 + 95 + 98$$

$$= 397$$

$$N_1 = 397 / 2,2$$

$$= 180,45 \times 10^5$$

$$N_2 = 105 + 106 + 92 + 91$$

$$= 394$$

$$N_2 = 394 / 2,2$$

$$= 179,09 \times 10^5$$

Rata-rata populasi BAL =  $(N_1 + N_2) / 2$

$$= (180,45 + 179,09) / 2 \times 10^5$$

$$= 179,77 \times 10^5$$

$$= 1,79 \times 10^7$$

## b. Populasi Bakteri Asam laktat pada media komersial

Perlakuan	Pengenceran	Ulangan		Jumlah Populasi	Populasi BAL	Rata-rata Populasi BAL (cfu/ml)	
		1	2				
<i>L. plantarum</i>	10 <sup>6</sup>	101	102	383	174,09	174,77x10 <sup>6</sup>	1,75 x10 <sup>8</sup>
	10 <sup>7</sup>	91	89				
	10 <sup>6</sup>	105	101	386	175,45		
	10 <sup>7</sup>	93	87				
<i>L. bulgaricus</i>	10 <sup>6</sup>	106	108	379	172,27	173,41x10 <sup>6</sup>	1,73 x10 <sup>8</sup>
	10 <sup>7</sup>	83	82				
	10 <sup>6</sup>	106	107	384	174,55		
	10 <sup>7</sup>	84	87				
<i>S. thermophilus</i>	10 <sup>6</sup>	112	109	381	173,18	170,23x10 <sup>6</sup>	1,70x10 <sup>8</sup>
	10 <sup>7</sup>	81	79				
	10 <sup>6</sup>	113	107	368	167,27		
	10 <sup>7</sup>	75	73				
Campuran	10 <sup>6</sup>	134	137	503	228,64	226,59x10 <sup>6</sup>	2,26 x10 <sup>8</sup>
	10 <sup>7</sup>	119	113				
	10 <sup>6</sup>	135	134	494	224,55		
	10 <sup>7</sup>	115	110				

**Lampiran 4.11 Asumsi dan Parameter untuk Kelayakan Keuangan**

	<b>Asumsi</b>	<b>Satuan</b>	<b>Jumlah</b>	<b>Keterangan</b>
1	Periode proyek	tahun	5	
2	Sewa tanah dan bangunan	tahun	5	
3	Jumlah hari kerja/ bulan	hari	26	1 bulan 52 kali hidrolisis
4	Kebutuhan bahan baku dan pembantu			
	Udang rebon kering Kg x @Rp. 60.000	Rp/Kg	60.000	450 Kg / Tahun
	Air L x @Rp. 1000	Rp/Kg	1.000	2247 L / Tahun
	listrik 26 hari kerja x Rp. 100.000	Rp/Kg	100.000	312 penggunaan/ Tahun
	kemasan botol (250 ml) @5.000	Rp/Kg	5.000	7488 botol/ Tahun
	Label 11850pcs @Rp.500	Rp/Kg	500	7488 pcs / Tahun
	Enzim 0,5 kg	Rp/Kg	1.200.000	562 mg / tahun
5	Out put			
	Rendemen (Pepton cair)	%	85	
	pepton cair yang dihasilkan pertahun	botol (250 ml)	12.729	100%
	kenaikan Produksi per tahun	20%	100	tahun ke-2, 3, 4 dan 5
6	Reveniew			
	Harga jual per botol (retailer)	Rp	42.000	40%
	Harga jual per botol (langsung)	Rp	46.000	15%
	Pendapatan (thn 4&5 = 100%)	Rp		tahun 1-3 sesuai produksi
7	Penggunaan tenaga kerja			
	Honor/ Gaji + lembur + bonus	Rp	39.000.000	per tahun
	Penggunaan kredit biaya			
8	Investasi			
	Kredit	%	50	
	Modal sendiri	%	50	
9	<i>DiscountFactor</i> (DF)	%	12	

**Lampiran 4.12 Kebutuhan Bahan Baku dan Bahan Pembantu**

No	Keterangan	Harga satuan/ kg (Rp)	Kebutuhan			Harga (RP) per tahun
			Per Produksi (Kg)	Per Bulan (Kg)	Per Tahun (Kg)	
1	Udang Rebon	Rp 60.000	1,44	37,4	449,3	Rp 26.956.800
2	Air	Rp 1.000	7,2	187,2	2.246,4	Rp 2.246.400
3	Enzim	Rp 1.200.000	1,8	46,8	561,6	Rp 1.347.840
<b>Jumlah</b>						<b>Rp 30.551.040</b>
<b>Jumlah Total</b>						<b>Rp 30.551.040</b>

**Lampiran 4.11 Biaya Tenaga Kerja**

No	Deskripsi	Jumlah	Gaji/ bulan	Gaji/ tahun
1	Tenaga kerja	2	Rp 750.000	Rp 18.000.000
2	Manager	1	Rp 1.500.000	Rp 18.000.000
3	Bonus			Rp 3.000.000
	<b>Total</b>			<b>Rp 39.000.000</b>

**Keterangan:**

- Bonus diberikan 1 kali Gaji selama setahun bagi masing masing karyawan

**Lampiran 4.13 Biaya Pengemasan**

No	Keterangan	Harga satuan (Rp)	Kebutuhan produksi/ tahun	Biaya Per tahun (Rp)
1	Botol	Rp 5.000	7.488	Rp 37.440.000
2	Stiker	Rp 500	7.488	Rp 3.744.000
	Total			Rp 41.184.000

**Lampiran 4.14 Biaya Perbaikan dan Pemeliharaan Alat dan Bangunan per Tahun= 2% dari nilai barang**

No	Keterangan	Nilai	Jumlah
1	Sewa tanah dan bangunan	Rp 25.000.000	Rp 500.000
2	<i>Waterbath Shaker</i>	Rp 22.000.000	Rp 440.000
3	Alat Sentrifuse	Rp 75.000.000	Rp 1.500.000
4	Meja stainless produksi	Rp 500.000	Rp 10.000
5	Timbangan digital	Rp 50.000	Rp 1.000
6	<i>Dryer</i>	Rp 250.000	Rp 5.000
7	Oven	Rp 1.000.000	Rp 20.000
8	keranjang distribusi	Rp 100.000	Rp 2.000
9	Spatula	Rp 10.000	Rp 200
10	Kendaraan (Mio Second)	Rp 4.000.000	Rp 80.000
11	Erlenmeyer	Rp 200.000	Rp 4.000
12	Blender	Rp 500.000	Rp 10.000

**Lampiran 4.15 Biaya Investasi dan Penyusutan per Tahun**

No	Jenis Biaya	Tahun ke-	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Nilai Investasi (Rp)
1	Perijinan	0		Rp 1.000.000	Rp 1.000.000
2	Sewa tanah dan bangunan	0		Rp 5.000.000	Rp 25.000.000
3	Mesin dan Peralatan				
	<i>Waterbath Shaker</i>	0	1	Rp 20.000.000	Rp 20.000.000
	Alat Sentrifuse	0	1	Rp 75.000.000	Rp 75.000.000
	Meja <i>stainlesstell</i> produksi	0	1	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000
	Timbangan digital	0	1	Rp 500.000	Rp 500.000
	Gunting	0	2	Rp 80.000	Rp 160.000
	Blender	0	2	Rp 500.000	Rp 1.000.000
	keranjang distribusi	0	1	Rp 80.000	Rp 80.000
	<i>Hair Dryer</i>	0	1	Rp 200.000	Rp 200.000
	Spatula	0	2	Rp 15.000	Rp 30.000
	Oven	0	1	Rp 1.500.000	Rp 1.500.000
	Erlenmeyer	0	12	Rp 200.000	Rp 2.400.000
	Jumlah biaya mesin dan peralatan				Rp 103.870.000
	Biaya tak terduga				Rp 10.387.000
4	Kendaraan ( <i>Mio Second</i> )	0	1	Rp 4.000.000	Rp 4.000.000
5	Biaya Promosi	0	1	Rp 5.000.000	Rp 5.000.000
	<b>Total</b>				<b>Rp 149.257.000</b>

## Lampiran 4.16 Biaya Produksi Per Tahun

No	Uraian	Periode Tahun				
		Ke-1	Ke-2	Ke-3	Ke-4	Ke-5
<b>I</b>	<b>Biaya Tetap</b>					
	Kas	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000
	ATK	Rp 1.800.000	Rp 1.800.000	Rp 1.800.000	Rp 1.800.000	Rp 1.800.000
	Komunikasi	Rp 4.800.000	Rp 4.800.000	Rp 4.800.000	Rp 4.800.000	Rp 4.800.000
	Transportasi	Rp 9.360.000	Rp 9.360.000	Rp 9.360.000	Rp 9.360.000	Rp 9.360.000
	Manajer	Rp 18.000.000	Rp 18.000.000	Rp 18.000.000	Rp 18.000.000	Rp 18.000.000
	Listrik	Rp 2.400.000	Rp 2.400.000	Rp 2.400.000	Rp 2.400.000	Rp 2.400.000
	Bonus akhir tahun karyawan	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000
	Biaya administrasi umum	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000	Rp 3.000.000
	Perbaikan dan pemeliharaan alat produksi		Rp 1.466.000	Rp 1.466.000	Rp 1.466.000	Rp 1.466.000
	Penyusutan mesin dan peralatan produksi		Rp 13.694.000	Rp 13.694.000	Rp 13.694.000	Rp 13.694.000
	Penyusutan kendaraan		Rp 800.000	Rp 800.000	Rp 800.000	Rp 800.000
	Biaya promosi	Rp 5.000.000				
	Biaya pembelian peralatan baru		Rp 350.000	Rp 350.000	Rp 350.000	Rp 350.000
	Total angsuran	Rp 34.000.000	Rp 31.000.000	Rp 28.000.000		
	Pajak Motor	Rp 700.000	Rp 700.000	Rp 700.000	Rp 700.000	Rp 700.000
	<b>Jumlah</b>	Rp 85.060.000	Rp 93.370.000	Rp 90.370.000	Rp 62.370.000	Rp 62.370.000



**II Biaya Variabel**

udang rebon 450 Kgx @Rp. 60.000	Rp	27.000.000	Rp	38.880.000	Rp	55.987.200	Rp	80.621.568	Rp	116.095.058
enzim 562 gram @Rp. 1.200.000/500 g	Rp	1.348.800	Rp	1.942.272	Rp	2.796.872	Rp	4.027.495	Rp	5.799.593
air 2247 L x @Rp. 1.000	Rp	2.247.000	Rp	3.235.680	Rp	4.659.379	Rp	6.709.506	Rp	9.661.689
listrik 26 hari kerja x Rp. 100.000	Rp	31.200.000	Rp	37.440.000	Rp	44.928.000	Rp	53.913.600	Rp	64.696.320
kemasan 7488 botol x @ Rp.5000	Rp	37.440.000	Rp	53.913.600	Rp	77.635.584	Rp	111.795.241	Rp	160.985.147
Label pcs 7488 @Rp.500	Rp	3.744.000	Rp	5.391.360	Rp	7.763.558	Rp	11.179.524	Rp	16.098.515
Pegawai 2 orang x @Rp. 750.000/bulan	Rp	18.000.000	Rp	21.600.000	Rp	25.920.000	Rp	31.104.000	Rp	37.324.800
<b>Jumlah</b>	<b>Rp</b>	<b>120.979.800</b>	<b>Rp</b>	<b>162.402.912</b>	<b>Rp</b>	<b>219.690.593</b>	<b>Rp</b>	<b>299.350.934</b>	<b>Rp</b>	<b>410.661.121</b>
<b>Jumlah Total</b>	<b>Rp</b>	<b>206.039.800</b>	<b>Rp</b>	<b>255.772.912</b>	<b>Rp</b>	<b>310.060.593</b>	<b>Rp</b>	<b>361.720.934</b>	<b>Rp</b>	<b>473.031.121</b>

Keterangan:

Biaya Variabel diasumsikan meningkat 20% di tahun berikutnya di karenakan permintaan pasar yang semakin meningkat  
HARGA bahan meningkat 20% di tahun berikutnya

**Lampiran 4.17 Penetapan Harga Pokok Penjualan dan Harga Jual**

No	Keterangan	Satuan	Jumlah
1	Jumlah total biaya	Rp	Rp 120.979.800
2	Jumlah produksi/ thn	Kg	374,4
3	Biaya produksi per kg	Rp/ kg	323130
4	Biaya produksi per gr	Rp/ gr	323.130
5	Harga pokok/ per botol HPP	Rp	Rp 32.313

**Lampiran 4.18 Produksi dan Pendapatan Kotor**

Tahun	Penjualan <i>Retailer</i> 250 ml/btl	Penjualan retail	Penjualan Langsung	Total Pendapatan (Rp)
1	5.990	Rp 213.857.280	57.919.680	Rp 271.776.960
2	7.188	Rp 301.916.160	81.768.960	Rp 383.685.120
3	8.626	Rp 362.299.392	98.122.752	Rp 460.422.144
4	10.351	Rp 434.759.270	11.747.302	Rp 552.506.573
5	12.422	Rp 521.711.124	141.296.763	Rp 663.007.887

- Asumsi:
- a. Alokasi Produksi (total produksi = 450 kg )
    1. Produksi untuk penjualan melalui *retailer*(250 ml) harga jual = Rp. 42000,-
    2. Produksi untuk penjualan langsung (250 ml) harga jual = Rp. 46000,-
  - b. Penjualan
    1. Penjualan pada tahun pertama sebanyak 85 % produk laku terjual dari total produksi
    2. Penjualan pada tahun kedua sebanyak 90% produk laku terjual dari total produksi
    3. Penjualan pada tahun ketiga sebanyak 95% produk laku terjual dari total produksi
    4. Penjualan pada tahun keempat dan ke 5 100% produk laku terjual dari total produksi di tiap tahunnya produksi tetap di tingkatkan 20% untuk penggudangan

Lampiran 4.19 *Cash Flow* dan Kelayakan Finansial

No	Uraian	Tahun ke-0	Tahun ke-1	Tahun ke-2	Tahun ke-3	Tahun ke-4	Tahun ke-5
1	<b>Penjualan</b>		Rp271.776.960	Rp 345.316.608	Rp 421,864.934	Rp 552.506.573	Rp 663.007.887
2	<b>Investasi</b>	Rp149.257.000					
3	<b>Biaya Tetap</b>		Rp 107.700.000	Rp 106.090.667	Rp 103.090.667	Rp 75.090.667	Rp 75.590.667
4	<b>Biaya Variabel</b>		Rp 109.022.400	Rp 145,111,680	Rp 194,791,219	Rp 263,495,836	Rp 359.029.779
5	<b>Laba Kotor</b>		Rp 55.054.560	Rp 94.114.261	Rp 123.983.049	Rp.213.920.070	Rp 228.387.441
6	<b>Pajak (1%)</b> (UU No. 46 Thn 2013)		Rp 2.717.770	Rp 3.453.166	Rp 4.218.649	Rp 5.525.066	Rp 6.630.079
7	<b>EAT</b>		Rp 52.336.790	Rp 90.661.095	Rp 119.764.399	Rp208.395.005	Rp 221.757.362
8	<b>Total penyusutan (Depresiasi)</b>			Rp 26.567.140	Rp 26.567.140	Rp 26.567.140	Rp 26.567.140
9	<b>Aliran Kas Bersih (<i>Proceed</i>)</b> EAT + Depresiasi + (1-tax) x Bunga	-Rp149.257.000	Rp 61.246.790	Rp 126.138.235	Rp 155.241.539	Rp234.962.145	Rp 248.324.502