

**PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS
Bifidobacterium bifidum PADA ES KRIM COKELAT**

SKRIPSI

Oleh :
KHUSNUL YATIM
NIM. 135080300111013



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS
Bifidobacterium bifidum PADA ES KRIM COKELAT**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

**Oleh :
KHUSNUL YATIM
NIM. 135080300111013**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS
Bifidobacterium bifidum PADA ES KRIM COKELAT

Oleh :
KHUSNUL YATIM
NIM. 135080300111013

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 27 Mei 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes
NIP. 49561102 198802 2 001

Tanggal : 02 JUL 2019

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II

Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP
NIP. 19810331 201504 2 001

Tanggal : 02 JUL 2019

Mengetahui,

Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 02 JUL 2019

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL
TERHADAP VIABILITAS *Bifidobacterium bifidum* PADA
ES KRIM COKELAT**

Nama Mahasiswa : Khusnul Yatim

NIM : 135080300111013

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing 1 : Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes

Pembimbing 2 : Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Penguji 1 : Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS

Penguji 2 : Bayu Kusuma, S.Pi., M.Sc

Tanggal Ujian : 27 Mei 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

Bismillaahirrohmaanirrohiim, dengan penuh kesadaran saya menyatakan bahwa skripsi yang berhasil saya susun adalah hasil dari kerja keras dan usaha sendiri. Seluruh konten yang ada di laporan skripsi merupakan hasil dari proses penelitian dan belajar. Terkecuali kutipan-kutipan yang telah saya jadikan acuan dan saya cantumkan di dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari didapatkan terdapat konten skripsi yang dinilai ada unsur plagiasi, maka saya bersedia untuk menerima risiko yang pantas saya dapatkan. Terima kasih.



Malang, 2019

Mahasiswa

Khusnul Yatim
135080300111013

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bimbingan serta kerjasama dari berbagai pihak yang terkait. Oleh karena itu, rasa hormat dan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberi rezeki, kekuatan, dan kesehatan
 2. Ytc. orangtua saya beserta keluarga yang tidak mampu saya jabarkan segala peran dan pengorbanannya
 3. Yth. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes selaku Dosen Pembimbing 1 skripsi
 4. Yth. Ibu Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP selaku Dosen Pembimbing 2 skripsi
 5. Seluruh Dosen FPIK Universitas Brawijaya, terutama Dosen prodi THP
 6. Tim mikrokapsul dan rekan THP 2013 yang telah mampu bekerja sama
- Terima kasih untuk segala dukungan moril dan materil yang telah menguatkan.

Semoga skripsi ini dapat membuka ilmu pengetahuan pembaca. Atas perhatiannya saya ucapkan terima kasih.

Malang, 2019

Penulis

RINGKASAN

KHUSNUL YATIM (135080300111013). Skripsi tentang Pengaruh Penambahan Mikrokapsul terhadap Viabilitas *Bifidobacterium bifidum* pada Es Krim Cokelat (Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes** dan **Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP**)

Mikroenkapsulasi adalah teknologi penyalutan bahan inti untuk menjaga bahan inti dari ancaman lingkungan yang dapat merusak. Teknologi mikroenkapsulasi dapat mempertahankan viabilitas *B. bifidum* sehingga memberikan efek kesehatan pada inang. Jumlah probiotik pada makanan harus 10^6 - 10^7 CFU/g agar disebut makanan kesehatan. Penambahan mikrokapsul ke dalam es krim cokelat diharapkan bisa menjadi pangan fungsional yang lebih bermanfaat bagi kesehatan. Pengolahan es krim cokelat pada berbagai kondisi suhu menjadi ancaman karena *B. bifidum* hanya mampu tumbuh optimum pada suhu 37 - 41°C, sehingga teknologi mikroenkapsulasi diharapkan dapat menjaga viabilitas *B. bifidum* pada es krim cokelat.

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas *B. bifidum* dan kualitas es krim cokelat. Penelitian dilaksanakan di Lab. Keamanan Hasil Perikanan, Lab. Penanganan Hasil Perikanan, Lab. Nutrisi dan Pakan Ikan, Lab. Hidrologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, dan Lab. Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan THP - Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada Juni - September 2018.

Metode yang digunakan yaitu eksperimen dengan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Prosedur penelitian meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi pembuatan SRC iota, pembuatan mikrokapsul, dan formulasi es krim cokelat. Sedangkan penelitian utama meliputi viabilitas *B. bifidum*, *overrun*, total padatan, daya leleh, dan organoleptik es krim cokelat dengan perlakuan K1, K2, K3, dan K4.

Hasil penelitian didapat penambahan mikrokapsul *B. bifidum* berpengaruh nyata terhadap viabilitas *B. bifidum* dan kualitas es krim cokelat namun tidak berbeda nyata terhadap organoleptik es krim cokelat. Viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan K4 yakni 6,60 log CFU/mL, sedangkan viabilitas terendah pada perlakuan K1 dengan viabilitas sebesar 2,44 log CFU/mL. Berdasarkan analisis kualitas es krim cokelat, didapat rata-rata terbaik pada perlakuan K4 (penambahan mikrokapsul 10%).

Es krim cokelat probiotik yang dihasilkan memiliki nilai *overrun* yang masih mungkin ditingkatkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang formulasi es krim probiotik untuk mendapatkan karakteristik yang lebih baik terutama nilai *overrun* yang lebih tinggi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas rahmat dan kuasa-Nya, penulis dapat menyelesaikan dan menyajikan Skripsi yang berjudul “Pengaruh Penambahan Mikrokapsul terhadap Viabilitas *Bifidobacterium bifidum* pada Es Krim Cokelat”. Skripsi ini berisi tentang teknologi mikroenkapsulasi yang diaplikasikan ke dalam produk es krim cokelat yang bertujuan untuk meningkatkan nilai manfaat kesehatan tubuh konsumen. Selain bertujuan untuk memenuhi syarat kelulusan serta meraih gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, skripsi ini juga disusun sebagai wujud aplikasi teknologi mikroenkapsulasi yang bisa diaplikasikan secara sederhana oleh siapapun.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bimbingan serta kerjasama dari berbagai pihak yang terkait. Oleh karena itu, rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang telah mendukung dengan segala kemampuannya. Penulis memohon maaf apabila skripsi ini masih banyak kekurangan. Penulis sangat berharap skripsi ini dapat menjadi media belajar untuk siapa pun yang ingin mempelajari teknologi mikroenkapsulasi.

Malang, 2019

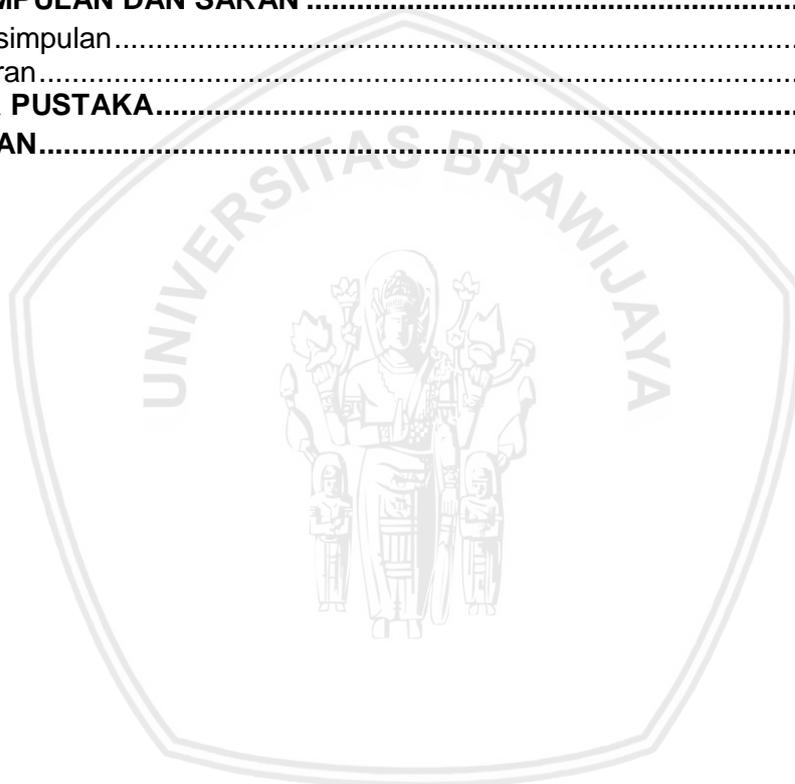
Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS	i
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	3
1.4. Hipotesis	4
1.5. Kegunaan	4
1.6. Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Mikroenkapsulasi	5
2.1.1. Definisi Mikroenkapsulasi	5
2.1.2. Metode Mikroenkapsulasi	6
2.1.3. Mikroenkapsulasi Bakteri Probiotik	8
2.2. Probiotik	9
2.3. <i>Bifidobacterium bifidum</i>	13
2.4. Viabilitas Bakteri Probiotik	15
2.5. Iota Karaginan	16
2.6. Maltodekstrin	19
2.7. Es Krim Cokelat	21
2.7.1. Definisi Es Krim	21
2.7.2. Es Krim Cokelat	22
2.7.3. Komponen Gizi Es Krim Cokelat	24
2.7.4. Syarat Mutu Es Krim Cokelat	25
2.7.5. Cara Pembuatan Es Krim Cokelat	26
2.7.6. Karakteristik Fisik Es Krim Cokelat	28
2.7.7. Es Krim Cokelat Berprobiotik	28
3. METODE PENELITIAN	30
3.1. Materi Penelitian	30
3.1.1. Alat Penelitian	30
3.1.2. Bahan Penelitian	30
3.2. Metode Penelitian	31
3.2.1. Metode	31
3.2.2. Variabel Penelitian	31
3.2.3. Rancangan Penelitian	31
3.3. Prosedur Kerja Penelitian	33
3.3.1. Penelitian Pendahuluan	33
3.3.2. Penelitian Utama	36



3.3.3. Parameter Uji Mikrokapsul	37
3.3.4. Parameter Uji Es Krim Cokelat	41
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1. Hasil Penelitian Pendahuluan	43
4.1.1. Analisis Bahan Penyalut	43
4.1.2. Analisis Mikrokapsul <i>Bifidobacterium bifidum</i>	47
4.1.3. Kandungan Kimia Es Krim Cokelat	51
4.1.4. Nilai Organoleptik Es Krim	52
4.2. Penelitian Utama	53
4.2.1. Viabilitas <i>Bifidobacterium bifidum</i> dalam Es Krim Cokelat	53
4.2.2. Analisis Kualitas Es Krim Cokelat	57
4.2.3. Analisis Organoleptik Es Krim Cokelat Probiotik	61
5. KESIMPULAN DAN SARAN	70
5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN	77



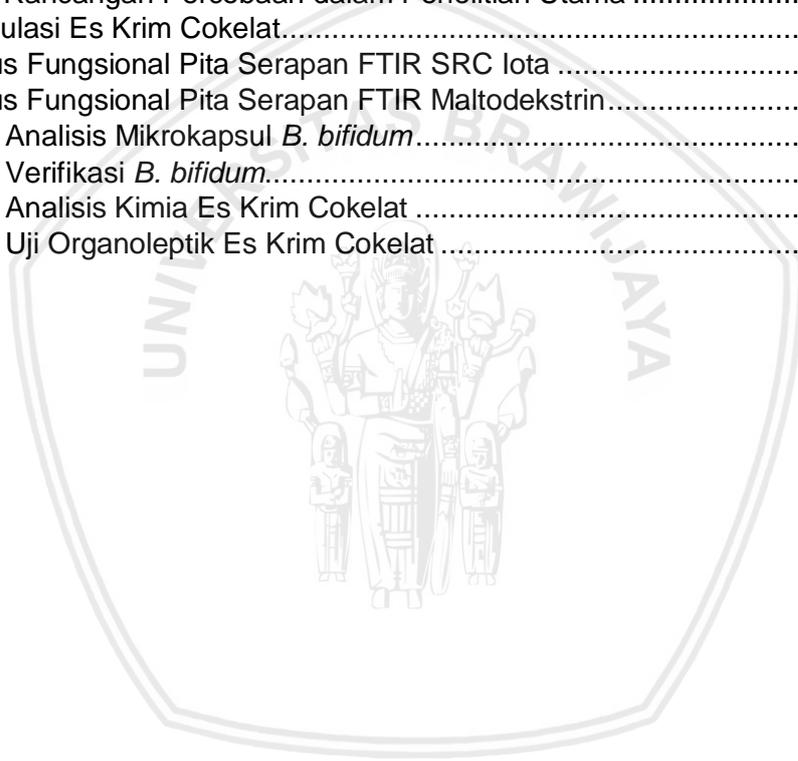
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Bifidobacterium bifidum</i>	14
2. Maltodekstrin	20
3. Spektrum FTIR SRC Iota	43
4. Spektrum FTIR Maltodekstrin	44
5. Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network</i> (IPN)	46
6. Diameter Mikrokapsul <i>B. bifidum</i>	47
7. Viabilitas <i>B. bifidum</i> pada Es Krim Cokelat	54
8. Nilai <i>Overrun</i> Es Krim Cokelat Probiotik.....	57
9. Total Padatan Es Krim Cokelat Probiotik	59
10. Daya Leleh Es Krim Cokelat Probiotik.....	60
11. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>B. bifidum</i> terhadap Rasa Es Krim Cokelat.....	62
12. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>B. bifidum</i> terhadap Tekstur Es Krim Cokelat.....	63
13. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>B. bifidum</i> terhadap Aroma Es Krim Cokelat.....	66
14. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>B. bifidum</i> terhadap Warna Es Krim Cokelat.....	68



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Beberapa Penelitian Terdahulu Teknik Mikroenkapsulasi	7
2. Mikroba yang Sering Digunakan sebagai Probiotik	11
3. Komposisi Kimia dan Karakteristik Iota Karaginan	18
4. Karakteristik Iota Karaginan	18
5. Variabel dan Nilai Standar Mutu Maltodekstrin	21
6. Beberapa Penelitian Terdahulu Penggunaan Maltodekstrin	21
7. Komponen Gizi Es krim Cokelat	24
8. Syarat Mutu Es Krim Cokelat menurut SNI 01-3713-1995	25
9. Model Rancangan Percobaan dalam Penelitian Utama	32
10. Formulasi Es Krim Cokelat	35
11. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR SRC Iota	44
12. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR Maltodekstrin	45
13. Hasil Analisis Mikrokapsul <i>B. bifidum</i>	47
14. Hasil Verifikasi <i>B. bifidum</i>	50
15. Hasil Analisis Kimia Es Krim Cokelat	51
16. Hasil Uji Organoleptik Es Krim Cokelat	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Skema Pembuatan Kultur Bakteri	77
Lampiran 2. Skema Pembuatan Es Krim Cokelat	78
Lampiran 3. Skema Pembuatan SRC <i>E. spinosum</i>	79
Lampiran 4. Skema Pembuatan Mikrokapsul <i>B. bifidum</i>	80
Lampiran 5. Skema Uji Viabilitas Mikrokapsul <i>B. bifidum</i>	81
Lampiran 6. Foto Proses Pembuatan SRC <i>E. spinosum</i>	82
Lampiran 7. Foto Proses Pembuatan Mikrokapsul <i>B. bifidum</i>	83
Lampiran 8. Foto Proses Pengujian Viabilitas Mikrokapsul <i>B. bifidum</i>	84
Lampiran 9. Proses Pembuatan Es Krim Cokelat	85
Lampiran 10. Analisis Sidik Ragam Viabilitas <i>B. bifidum</i>	86
Lampiran 11. Analisis Sidik Ragam Overrun.....	87
Lampiran 12. Analisis Sidik Ragam Total Padatan.....	88
Lampiran 13. Analisis Sidik Ragam Daya Leleh.....	89
Lampiran 14. Analisis Data Organoleptik Rasa.....	90
Lampiran 15. Analisis Data Organoleptik Tekstur	92
Lampiran 16. Analisis Data Organoleptik Aroma.....	94
Lampiran 17. Analisis Data Organoleptik Warna.....	96

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikroenkapsulasi adalah teknik pelapisan atau penyalutan bahan inti yang berbentuk padatan, cairan, maupun gas dengan suatu bahan penyalut yang melibatkan interaksi antara inti (*core material*), bahan pengenkapsulat (*cell material*), dan teknik mikroenkapsulasi yang bekerja secara sinergis menghasilkan kapsul dalam bentuk kecil (mikrokapsul). Mikroenkapsulasi bertujuan melindungi bahan inti dari kehilangan nilai gizi, memudahkan pengendalian pelepasan bahan aktif, dan melindungi komponen aktif dari lingkungan (Setijawati *et al.*, 2011). Mikroenkapsulasi probiotik merupakan proses dimana sel probiotik dimasukkan ke dalam matriks enkapsulat untuk melindungi sel dari kerusakan akibat lingkungan. Komponen peka seperti mikroorganisme, dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur simpannya (Pacifico, 2001).

Probiotik adalah mikroorganisme yang berfungsi menyehatkan inangnya. Jumlah probiotik yang ada pada makanan harus 10^6 - 10^7 CFU/g agar disebut sebagai makanan kesehatan (Firdaus dan Setijawati, 2014). Bakteri yang tergolong sebagai probiotik didominasi berasal dari kelompok bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus*, *Lactococcus*, dan *Bifidobacterium* (Saarela *et al.*, 2002). Baffoni *et al.* (2013) melaporkan bahwa terdapat 25 spesies dari genus *Bifidobacterium*, salah satunya adalah spesies *B. bifidum*. *B. bifidum* adalah bakteri yang dapat memproduksi asam laktat dan asam asetat sehingga mampu menurunkan pH usus dan mencegah kolonisasi bakteri patogen pada saluran pencernaan. Penerapan teknologi mikrokapsul dapat mempertahankan viabilitas *B. bifidum* sehingga tidak terpengaruh lingkungan pencernaan dan tetap memberikan efek kesehatan pada inangnya (Burgain dan Scher, 2011). Salah satu

aplikasi mikrokapsul pada produk makanan adalah ke dalam es krim coklat. Es krim dipilih untuk meningkatkan tingkat konsumsi konsumen terhadap pangan yang mengandung bakteri probiotik, sehingga diversifikasi terhadap produk ini perlu terus dikembangkan.

Bifidobacterium adalah bakteri gram positif anaerob, non motil, dan tidak berspora (Ariyani, 2013). *B. bifidum* dapat menghasilkan antibiotik bifidin yang dapat melindungi usus dari bakteri atau khamir patogen, menghasilkan asam asetat dan asam laktat sehingga menciptakan kondisi usus yang asam dan tidak dapat dihuni oleh bakteri patogen, meningkatkan metabolisme protein, dan membantu fungsi hati dalam proses pencernaan makanan.

Es krim adalah salah satu makanan pencuci mulut dalam bentuk beku. Menurut Eckles *et al.* (1984), es krim adalah produk olahan susu yang dibekukan, terbuat dari kombinasi susu dengan satu atau lebih bahan tambahan seperti telur, gula, coklat dengan atau tanpa bahan pencitarasa dan pewarna, atau penstabil. Sedangkan menurut Arbuckle (1986), es krim merupakan produk pangan beku yang berasal dari susu yang dibekukan melalui agitasi adonan es krim yang telah dipasteurisasi. Agitasi pada saat pembekuan bertujuan untuk menggabungkan udara ke dalam adonan es krim dan menyeragamkan konsistensi serta kekentalan es krim.

Komposisi es krim terdiri dari susu, pemanis (gula), penstabil, pengemulsi, dan perasa. Bahan-bahan ini dicampur, dipasteurisasi dan dihomogenisasi sebelum dibekukan. Komposisi es krim bervariasi tergantung permintaan pasar namun yang umum adalah produk yang mengandung minimal 10% lemak susu, 20% total padatan susu, pemanis yang aman dan cocok serta penstabil, flavour, dan produk turunan susu (Marshall dan Arbuckle, 2000).

Cokelat merupakan sebutan untuk makanan ataupun minuman dari olahan biji kakao yang pertama kali dikonsumsi oleh penduduk Mesoamerika kuno.

Cokelat merupakan produk pangan olahan yang bahan komposisinya terdiri dari pasta coklat, gula, lemak kakao dan beberapa jenis tambahan citarasa (Kelishadi, 2005). Cokelat memiliki kandungan gizi yang beraneka ragam antara lain energi, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin B12, vitamin C, dan vitamin E. Cokelat dapat diolah menjadi es krim coklat yang umumnya disukai semua kalangan usia.

Es krim coklat berprobiotik diteliti untuk mengetahui viabilitas *B. bifidum* di dalam es krim coklat dan untuk mengevaluasi sifat sensori es krim coklat yang telah ditambah dengan mikrokapsul *B. bifidum* demi tercapainya pangan fungsional yang menunjang kesehatan tubuh. Penelitian tentang es krim probiotik pernah dilakukan oleh peneliti terdahulu. Moussa *et al.* (2005) melaporkan bahwa pembekuan awal campuran es krim dalam *freezer* diikuti oleh pengerasan pada suhu -26°C menyebabkan pengurangan lebih sedikit dari satu siklus log dalam jumlah total koloni probiotik. Viabilitas dalam es krim beku ditemukan pada kisaran log 7,48 cfu/g untuk *L. Acidophilus*; log 7,90 cfu/g untuk *B. bifidum*, log 8,16 cfu/g untuk *L. reuteri*, log 7 cfu/g untuk *L. gasseri*, dan log 7,80 cfu/g untuk *L. Rhamnosus*.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah penambahan mikrokapsul *B. bifidum* dengan konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap viabilitas *B. bifidum* dan kualitas es krim coklat.

1.3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas *B. bifidum* dan kualitas es krim coklat.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini yaitu diduga penambahan mikrokapsul *B. bifidum* dengan konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap viabilitas *B. bifidum* dan kualitas es krim coklat.

1.5. Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah menjadi tambahan ilmu pengetahuan yang bersifat baru bagi diri sendiri dan dapat memberikan informasi keilmuan kepada orang lain.

1.6. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya, Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Hidrologi FPIK Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian (FTP) Universitas Brawijaya. Penelitian dilakukan pada Juni - September 2018.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Mikroenkapsulasi

2.1.1. Definisi Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi bukan teknologi yang baru, teknologi ini dirintis oleh National Cash Register Co. Dayton pada tahun 1930-an dan mulai dikomersialkan pada tahun 1954. Mikroenkapsulasi adalah teknik pelapisan atau penyalutan bahan inti yang berbentuk padatan, cairan, maupun gas dengan suatu bahan penyalut yang melibatkan interaksi antara inti (*core material*), bahan pengenkapsulat (*cell material*), dan teknik mikroenkapsulasi yang bekerja secara sinergis menghasilkan kapsul yang disebut mikrokapsul yang berukuran mikron sampai millimeter (Kondo, 1979). Kapsul berkemampuan melepaskan bahan inti pada laju terkendali dan kondisi tertentu. Bahan yang dilapisi secara sempurna oleh penyalut biasanya menunjukkan sifat yang lebih stabil dari asalnya.

Mikroenkapsulasi merupakan proses dimana sel probiotik dimasukkan ke dalam matriks enkapsulat untuk melindungi sel dari kerusakan akibat lingkungan, melindungi bahan inti dari kehilangan nilai gizi, menstabilkan bahan aktif, dan memudahkan pengendalian pelepasan bahan aktif. Zat aktif yang terkandung disebut inti (*core*), fase internal, atau bahan isian. Sedangkan dinding pelapisnya disebut *skin, shell*, atau film pelindung. Sedangkan bahan yang melapisi disebut penyalut, enkapsulan, atau dinding. Mikropartikel terbuat dari bahan inti yang disalut dengan penyalut seperti polimer, lilin, dan beberapa bahan protektif lain seperti polimer sintetik yang biodegradabel dan produk alam yang termodifikasi seperti amilum, gum, protein, lemak, dan lilin (Swarbrick dan Boylan, 1994).

2.1.2. Metode Mikroenkapsulasi

Berbagai metode telah dikembangkan dalam proses mikroenkapsulasi bahan pangan. Metode enkapsulasi dibagi menjadi tiga yaitu metode kimiawi, metode fisik, dan metode fisik-kimiawi (*physicochemical*). Beberapa teknik mikroenkapsulasi telah banyak dikembangkan dan dimanfaatkan secara komersial seperti *spray drying*, *air suspension coating*, *extrusion*, *spray cooling*, *spray chilling*, *centrifugal extrusion*, *rotational suspension separation*, *coacervation*, dan *complexing* (Wu *et al.*, 2000). Beberapa teknik enkapsulasi menurut Estiasih dan Ahmadi, (2012) yaitu :

- a. Metode fisik. Proses fisik yang terlibat adalah perubahan fase bahan enkapsulan dari cair ke padatan, pengeringan, pemanasan, dan pendinginan. Metode fisik meliputi teknik *spray drying*, *spray cooling and chilling*, *freeze drying*, dehidrasi dingin, dan suspensi rotasi.
- b. Metode kimiawi, terjadi perubahan yang disebabkan reaksi kimia pada bahan enkapsulan. Contoh metode mikroenkapsulasi secara kimiawi adalah koaservasi
- c. Metode *physicochemical* (fisik-kimiawi), terjadi proses fisik dan kimia yang berjalan bersamaan. Contoh mikroenkapsulasi yang melibatkan proses fisik-kimiawi adalah ekstrusi.

Beberapa penelitian terdahulu tentang teknik mikroenkapsulasi dapat dilihat pada **Tabel 1.**

Tabel 1. Beberapa Penelitian Terdahulu Teknik Mikroenkapsulasi

Peneliti	Bakteri/Metode	Penyalut	Viabilitas
Permatasari <i>et al.</i> (2002)	<i>L. rhamnosus</i> SKG 34/ <i>spray drying</i>	Maltodekstrin	4,78 x 10 ⁷ ±0,31
Febriyenti <i>et al.</i> (2014)	Karbamazepin/emulsifikasi	Alginat	93,264±4,126 (efisiensi)
Ula (2016)	<i>Bifidobacterium bifidum</i> /oven vakum	Maltodekstrin 3% dan iota karaginan 3,5%	7,8 log cfu/g
Pradipta <i>et al.</i> (2017)	<i>L. murinus</i> , <i>S. thermophilus</i> dan <i>P. acidilactici</i> / <i>spray drying</i>	Maltodekstrin dan susu skim (20% b/v)	83,94%, 90,53% dan 93,89% (efisiensi)

Sumber: Permatasari *et al.* (2002), Febriyenti *et al.* (2014), Ula (2016), Pradipta *et al.* (2017)

Gel partikel merupakan salah satu teknik enkapsulasi dalam pembuatan pelapis pada mikrokapsul yang berisi bakteri probiotik, teknik ini adalah gabungan antara metode ekstrusi dengan metode emulsifikasi. Cara melakukan teknik gel partikel yaitu dengan mencampur kultur bakteri probiotik dengan larutan polimer (enkapsulan) kemudian digunakan jarum untuk mengekstrusi atau mencetak mikrokapsul dengan diameter lubang 0,3-3 mm ke dalam larutan KCl steril 3,9 M (pembentuk gel) sehingga menghasilkan butiran-butiran mikrokapsul dengan diameter sesuai dengan ukuran lubang jarum.

Teknik enkapsulasi untuk bakteri asam laktat dilakukan dengan murah dan tidak toksik yaitu dengan menggunakan pelapis karaginan. Proses enkapsulasi probiotik dengan karaginan bisa dengan teknik ekstrusi atau dengan teknik emulsi yang akan membentuk gel hidrokoloid yang berbentuk manik-manik. Diantara kedua teknik tersebut, ekstrusi merupakan teknik yang lebih sederhana dan relatif murah. Setelah proses ekstrusi, kemudian dilakukan penyaringan mikrokapsul lalu dilakukan pengeringan dengan oven vakum selama 48 jam dengan suhu 40°C.

Mikroenkapsulasi dengan teknik gel partikel memiliki banyak kelebihan. Kelebihan dari teknik gel partikel adalah tidak membutuhkan peralatan modern yang relatif sulit didapat, biaya lebih murah, serta mudah diaplikasikan. Teknik gel

partikel akan terjadi perubahan fisik bahan enkapsulan akibat tekanan tinggi, terjadi pula perubahan kimia seperti protein terdenaturasi dan pati tergelatinisasi. Metode gel partikel sudah banyak digunakan dalam penelitian mikroenkapsulasi.

Mikroenkapsulasi memiliki beberapa manfaat khusus di industri makanan. Beberapa manfaat mikroenkapsulasi dalam industri makanan yaitu peningkatan stabilitas pada produk akhir dan selama pemrosesan, peningkatan keamanan (mengurangi sifat mudah terbakar dari volatil seperti aroma), mengurangi penguapan agen aktif yang mudah menguap dan tidak ada degradasi atau reaksi dengan komponen lainnya dalam produk makanan seperti oksigen atau air, efek tekstur menjadi terlihat secara isyarat visual, dan *controlled release* (rilis oleh stimulus yang tepat) (Nicolas dan Eyal, 2010). Alasan penerapan mikroenkapsulasi di industri makanan yaitu untuk mengurangi reaktivitas *core* dengan faktor lingkungan, mengurangi *transfer rate* dari bahan inti dengan lingkungan, mengontrol pelepasan bahan inti, menutupi rasa inti, dan mencairkan bahan inti ketika harus digunakan (Nasyarudin, 2016).

2.1.3. Mikroenkapsulasi Bakteri Probiotik

Jumlah mikroba hidup harus cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan dan mampu berkolonisasi sehingga dapat mencapai jumlah yang diperlukan selama waktu tertentu. Salah satu cara menjaga viabilitas bakteri adalah dengan metode enkapsulasi. Pacifico *et al.* (2001) menyatakan bahwa untuk komponen yang bersifat peka seperti mikroorganisme, dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur simpannya. Bahan penyalut yang umum digunakan sebagai enkapsulan dapat berasal dari gum, karbohidrat, dan protein seperti susu skim, laktosa, sukrosa, maltodekstrin, alginat, gum arab, pati, agar, gelatin, karaginan, albumin, dan kasein. Salah satu jenis karaginan yang biasa

digunakan sebagai penyalut adalah *Semi Refined Carrageenan* (SRC) jenis iota. SRC merupakan karaginan semi murni, karena masih mengandung selulosa.

Enkapsulasi dapat dilakukan pada bakteri, yang bertujuan untuk memberikan kondisi yang mampu mempertahankannya dari kondisi yang tidak menguntungkan seperti panas dan bahan kimia. Metode enkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas bakteri probiotik dibandingkan dengan sel bebas tanpa enkapsulasi (Chandramouli *et al.*, 2003). Produk mikroenkapsulasi dapat berbentuk bola, persegi panjang, atau tidak beraturan. Ukuran mikroenkapsulat menurut Risch (1995), dapat dibagi menjadi 3, yaitu makroenkapsulat ($>5000 \mu\text{m}$), mikroenkapsulat ($0,2-5000 \mu\text{m}$), dan nanomikroenkapsulat ($<0,2 \mu\text{m}$).

2.2. Probiotik

Probiotik berasal dari bahasa Yunani yaitu *pro bios* yang artinya “untuk kehidupan/hidup”. Sejarah probiotik dimulai dari awal peradaban manusia yaitu keju dan susu fermentasi amat dikenal oleh bangsa Yunani dan Romawi dan dianjurkan diberikan pada anak dan orang yang baru sembuh dari penyakit. Istilah “probiotics” diciptakan pada tahun 1950-an oleh W. Kollath. Probiotik adalah mikroorganisme hidup, yang bila dikonsumsi dengan dosis memadai maka dapat memberi manfaat kesehatan bagi inangnya. Probiotik menurut Kumar *et al.* (2010) yaitu mikroba hidup yang menguntungkan dan mampu memperbaiki keseimbangan mikroba intestinal. Mikroorganisme probiotik yang ada di dalam bahan makanan dapat menyeimbangkan flora usus yang mampu memberi efek positif terhadap kesehatan tubuh.

Mikroba yang sering digunakan sebagai probiotik umumnya berasal dari spesies bakteri asam laktat (BAL), namun ada juga yang berasal dari spesies lain seperti *Bacillus* dan *Saccharomyces*. Bakteri probiotik umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*

yang merupakan mikroflora normal pada saluran pencernaan manusia, kedua jenis bakteri ini dapat mempengaruhi peningkatan kesehatan karena dapat menstimulasi respon imun dan menghambat patogen (Sumanti *et al.*, 2016). Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak berspora, non motil, anaerob, katalase negatif, dan oksidase positif, dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Dosis probiotik agar dapat memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh yaitu 10^6 - 10^7 log cfu/g (Firdaus *et al.*, 2014).

Probiotik dapat memberikan manfaat ke tubuh seperti meningkatkan resistensi terhadap penyakit infeksi seperti diare, menurunkan tekanan darah dan kolesterol, mereduksi alergi, intoleransi glukosa, dan meningkatkan sistem imun tubuh (Harmayani *et al.*, 2001). Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme *host*, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Magfirah *et al.*, 2001).

BAL termasuk kelompok bakteri baik bagi manusia dan umumnya memenuhi status *Generally Recognize as Safe* (GRAS), yaitu aman bagi manusia sehingga jumlah konsumsinya tidak dibatasi secara regulasi. Probiotik dapat menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan sehingga terbentuk suatu ekosistem yang unik, dimana terjadi interaksi yang kompleks yang bekerja secara sinergis dan antagonis tergantung dari galur yang terlibat serta jumlah dan aktivitas metaboliknya. Beberapa kelompok bakteri probiotik adalah *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, dan *Bifidobacterium bifidum*. *Bifidobacterium* adalah

genus bakteri gram positif yang biasanya berada di saluran gastrointestinal, organ vital perempuan, dan mulut manusia (Yang *et al.*, 2017). Beberapa spesies bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Mikroba yang Sering Digunakan sebagai Probiotik

Bakteri Asam Laktat (BAL)			
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Spesies BAL Lain	Selain Spesies BAL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Protonibacterium freudenreichii</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Saccharomices boulardii</i> (ragi)
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>mesenteroides</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>			

Sumber : Kholisoh *et al.* (2016).

Sebagian besar bakteri yang tergolong sebagai bakteri probiotik berasal dari kelompok bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, dan *Bifidobacterium*. Probiotik berasal dari kelompok bakteri asam laktat seperti *L. acidophilus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*, *Enterococcus faecium*, *B. adolescentis*, dan *B. coagulans* (Ariyani, 2013). *Lactobacillus acidophilus* biasa diaplikasikan ke dalam yoghurt, keju fermentasi, dan buttermilk, *Lactobacillus casei* diaplikasikan pada keju dan yakult, *Lactobacillus plantarum* pada roti fermentasi, *B. breve* untuk susu bayi, dan *B. bifidum* pada produk susu di perusahaan (Anurogo, 2014). Menurut Food and Agriculture Organization/World Health Organization (2007), idealnya strain probiotik bersifat :

1. Tidak kehilangan sifat asli selama penyimpanan
2. Normal berada di saluran pencernaan manusia

3. Mampu bertahan hidup, dapat melawan *barrier* lambung, tahan kerja getah lambung, enzim pencernaan dan garam empedu serta berkoloni di usus
4. Berkoloni dan melekat pada sel intestinal
5. Menimbulkan fungsi metabolik pencernaan dengan memproduksi zat antimikroba
6. Tidak patogen terhadap sistem imun
7. Resistensi terhadap antibiotik.

Probiotik dapat digunakan untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan seperti diare, infeksi *Helicobacter pylori*, kanker, konstipasi, alergi, serangan jantung, dan meningkatkan imunitas saluran cerna. Probiotik dapat ditambahkan ke dalam makanan dan minuman dengan berbagai macam cara seperti campuran kering menjadi bakanan bubuk seperti formula bayi, dijadikan produk cair atau semi cair seperti jus atau es krim, atau disuntikkan ke dalam produk fermentasi seperti yoghurt dan susu fermentasi (Anurogo, 2014). Mekanisme probiotik melindungi atau memperbaiki kondisi kesehatan yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa cara menurut Simadibrata dan Daldiyono, (2006) yaitu :

1. Memproduksi substansi-substansi penghambat pertumbuhan bakteri patogen (negatif maupun positif) seperti asam organik, hidrogen peroksida, bakteriosin, reuterin yang mampu menghambat tidak hanya bakteri hidup namun juga toksin
2. Menghambat invasi dan perlekatan bakteri patogen dengan cara berkompetisi di tempat perlekatan permukaan permukaan mukosa saluran pencernaan
3. Kompetisi nutrisi, bakteri probiotik berkompetisi dengan bakteri patogen dalam hal perebutan nutrisi
4. Meningkatkan resistensi terhadap kolonisasi patogen
5. Menstimulasi kekebalan (imunitas) lokal dan perifer

6. Mencegah translokasi mikrobial
7. Merusak reseptor toksin dan mendegradasi toksin.

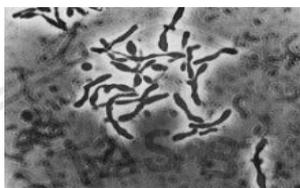
Probiotik mempunyai manfaat yang sangat menguntungkan bagi kesehatan. Enzim yang dimiliki bakteri probiotik seperti laktase menurut Novianto et al., (2013), mampu mengatasi intoleransi gula susu (laktosa), *bile salt hidrolase* membantu menurunkan kadar kolesterol, senyawa dinding sel probiotik (peptidoglikan) menyerap senyawa karsinogenik (penyebab kanker), asam laktat yang dihasilkan merangsang gerak peristaltik usus sehingga mencegah sembelit dan meningkatkan penyerapan kalsium yang diperlukan untuk mencegah osteoporosis. Sehingga penggunaan probiotik ke dalam makanan dapat menguntungkan inangnya jika diterapkan dengan cara dan kadar yang sesuai.

2.3. *Bifidobacterium bifidum*

Bifidobacterium merupakan populasi terbesar ketiga dalam saluran usus manusia setelah genera *Bacterioides* dan *Eubacterium*. Berdasarkan hasil penelitian Baffoni et al. (2013), didapat bahwa total terdapat 25 spesies dari genus *Bifidobacterium* yang terdeteksi, salah satunya adalah spesies *B. bifidum*. Genus *Bifidobacterium* yang banyak digunakan sebagai probiotik adalah *B. longum*, *B. animalis*, *B. adolescentes*, *B. infantis*, *B. thermophilum*, dan *B. bifidum*. *Bifidobacterium* hidup pada lapisan lumen kolon, membentuk koloni dalam jumlah banyak, menyerap nutrisi, mensekresikan asam laktat, asam asetat, dan senyawa antimikroba. Genus *Bifidobacterium* adalah bakteri gram positif yang biasanya berada di saluran gastrointestinal, organ vagina, dan mulut manusia (Yang et al., 2017). Probiotik yang sering digunakan adalah spesies *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. *Bifidobacterium* memiliki beberapa spesies diantaranya *B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. bifidum*, dan *B. longum*.

Menurut Tanaka *et al.*, (2016), *Bifidobacterium bifidum* diklasifikasikan sebagai berikut :

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Actinobacteria</i>
Class	: <i>Actinobacteria</i>
Subclass	: <i>Actinobacteridae</i>
Order	: <i>Bifidobacteriales</i>
Family	: <i>Bifidobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Bifidobacterium</i>
Spesies	: <i>Bifidobacterium bifidum</i>



Gambar 1. *Bifidobacterium bifidum* (Mahmoudi *et al.*, 2013)

Bifidobacterium adalah bakteri gram positif anaerob, non motil, dan tidak berspora (Ariyani, 2013). *B. bifidum* dapat menghasilkan antibiotik bifidin yang dapat melindungi usus dari bakteri atau khamir patogen, menghasilkan asam asetat dan asam laktat sehingga menciptakan kondisi usus yang asam dan tidak dapat dihuni oleh bakteri patogen, meningkatkan metabolisme protein, dan membantu fungsi hati dalam proses pencernaan makanan. Komponen utama bifidin adalah asam glutamat dan fenilalanin. Bifidin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Micrococcus flavus* dan *Staphylococcus aureus*. Rentang pH optimum *Bifidobacterium* untuk mampu hidup adalah antara 6,5 dan 7. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Bifidobacterium* adalah 37-41°C, *Bifidobacterium* tidak mampu tumbuh pada suhu di atas 46°C (Mahmoudi *et al.*, 2013).

Efek menguntungkan dari *Bifidobacterium* adalah dapat meningkatkan metabolisme protein dengan memproduksi asam laktat sehingga dapat mengurangi kehilangan nutrisi yang dapat diserap. *Bifidobacterium* dominan pada dinding usus sehingga mencegah dinding usus dari kolonisasi bakteri yang tidak diinginkan (*E. coli*) atau khamir (*Candida*) (Maduningsih, 2008). *Bifidobacterium*

menghasilkan bifidin sebagai *eksopolisakarida* yang berperan untuk pelekat permanen. Beberapa senyawa *eksopolisakarida* mengandung glukodan frukto-oligosakarida dan bisa menghasilkan asam lemak rantai pendek setelah terhidrolisis dalam saluran usus oleh mikroflora usus besar, memberi efek positif bagi kesehatan, dan nutrisi sebagai prebiotik bagi flora usus (Surono, 2004).

B. bifidum adalah bakteri yang dapat memproduksi asam laktat dan asam asetat dengan memfermentasi laktosa tanpa menghasilkan CO₂ sehingga mampu menurunkan pH usus dan mencegah kolonisasi bakteri patogen pada saluran pencernaan dan terciptanya keseimbangan mikroflora intestinal. Peran *B. bifidum* sebagai bakteri probiotik yang sangat penting namun kelangsungan hidupnya yang terancam ketika melewati saluran pencernaan. Penerapan teknologi mikrokapsul dapat mempertahankan daya tahan hidup atau viabilitas *B. bifidum* agar tidak terpengaruh lingkungan pencernaan dan tetap memberikan efek kesehatan bagi tubuh (Burgain dan Scher, 2011).

2.4. Viabilitas Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non-patogen, yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang sesuai maka dapat memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Syarat probiotik agar dapat memberikan efek kesehatan adalah mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanan (Shortt, 1999). Parameter keberhasilan mikroenkapsulasi berbeda untuk setiap bahan yang akan dienkapsulasi. Enkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang dienkapsulasi memiliki viabilitas sel yang relatif tinggi dan sifat-sifat fisiologis yang relatif sama dengan sebelum dienkapsulasi (Triana dan Yulinery, 2015).

Viabilitas merupakan kemampuan hidup atau daya tahan hidup sel bakteri untuk tumbuh secara normal. Viabilitas sel probiotik menjadi parameter penting

terkait manfaatnya terhadap kesehatan. Viabilitas umumnya dinilai sebagai cfu/g harus dipertahankan pada tingkat yang dapat memberikan efek kesehatan. Enkapsulasi pada bakteri dapat memberikan kondisi yang mampu melindungi mikroba dari pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan seperti panas dan bahan kimia. Ketahanan (viabilitas) bakteri merupakan salah satu pertimbangan penting dalam pengembangan produk probiotik. Ketahanan probiotik dalam produk dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti pH, produksi hidrogen peroksida, oksigen dan nitrogen, peningkatan asam selama penyimpanan (pada produk fermentasi), suhu penyimpanan, kompetisi dengan bakteri lain selama fermentasi, dan stabilitas dalam bentuk kering maupun beku (Permatasari *et al.*, 2002).

Viabilitas probiotik tidak lepas dari kemampuan penyalut seperti karaginan. Karaginan memiliki banyak manfaat, diantaranya yaitu sebagai *stabilizer* (penstabil), *thickener* (bahan pengentalan), pembentuk gel, dan pengemulsi. Sifat ini banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, tekstil, kosmetik, obat-obatan, pasta gigi, cat, dan industri lainnya. Karaginan juga berfungsi sebagai pensuspensi, *protective* (pelindung), *film former* (mengikat suatu bahan), *syneresis inhibitor* (mencegah terjadinya pelepasan air), dan *flocculating agent* (agen pengikat) (Fathmawati dan Renardo, 2014). Karaginan adalah metabolit primer senyawa hidrokoloid dari rumput laut jenis *Euचेuma sp.* dan *Hypnea sp.*

2.5. Iota Karaginan

Anggota dari alga merah (*Rhodophyta*) menghasilkan galaktan (misal: karaginan dan agar) dan ganggang cokelat (*Phaeophyceae*) menghasilkan uronat (alginat). Karaginan mewakili salah satu bahan utama yang digunakan oleh industri makanan yang merupakan bahan alami, telah digunakan selama puluhan tahun dalam makanan dan umumnya dianggap aman. Karaginan komersial biasanya dibagi menjadi tiga jenis utama yaitu kappa, iota, dan lambda-karaginan

(Pereira *et al.*, 2009). Selain digunakan sebagai bahan makanan, minuman, dan obat-obatan, hasil olahan rumput laut seperti agar-agar, alginat, dan karaginan merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri (Istini, 1998).

Karaginan merupakan kelompok polisakarida galaktosa yang diekstraksi dari rumput laut. Sebagian besar karaginan mengandung natrium, magnesium, dan kalsium yang dapat terikat pada gugus ester sulfat dari galaktosa dan kopolimer 3,6-anhydro-galaktosa (Diharmi *et al.*, 2011). Karaginan yaitu senyawa hidrokoloid yang merupakan senyawa polisakarida rantai panjang yang diekstraksi dari rumput laut jenis-jenis karaginofit seperti *Eucheuma sp.*, *Chondrus sp.*, *Hypnea sp.*, dan *Gigartina sp.* Karaginan yaitu getah rumput laut yang diperoleh dari ekstraksi rumput laut merah dengan menggunakan air atau larutan alkali pada suhu tinggi (Pebrianata, 2005). Karaginan adalah polisakarida linier dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari pengulangan unit galaktosa dan 3,6-anhidro galaktosa (3,6 AG).

Karaginan memiliki kemampuan untuk membentuk gel secara *thermoreversible* atau larutan akan mengental jika ditambahkan ke dalam larutan garam sehingga banyak dimanfaatkan sebagai pembentuk gel, pengental, dan bahan penstabil di berbagai industri seperti pangan, farmasi, kosmetik, percetakan, dan tekstil. Berdasarkan metode ekstraksinya, karaginan dibagi menjadi dua jenis yaitu *refined carrageenan* dan *semi refined*. Metode ekstraksi karaginan *semi refined* biasa disebut dengan *Alkali Treated Carrageenophyte* (ATC). *Semi Refined Carrageenan* (SRC) merupakan produk karaginan yang memiliki tingkat kemurnian lebih rendah dibandingkan dengan *Refined Carrageenan* (RC), karena di dalamnya masih terdapat sejumlah kecil selulosa yang ikut mengendap (Diharmi *et al.*, 2011). Kandungan kimia iota karaginan menurut Diharmi *et al.* (2011) dan Hudha *et al.* (2012) tercantum pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Komposisi Kimia dan Karakteristik Iota Karaginan

Parameter	Hudha <i>et al.</i> (2012)	Diharmi <i>et al.</i> (2011)	Standar FAO
Kadar Air	2,8165%	11,09%	Maks. 12%
Kadar Abu	3,1125%	26,32%	15-30%
Kadar Protein	0,1720%	-	-
Kadar Sulfat	21,8225%	27,76%	14-40%

Sumber : Hudha *et al.* (2012) dan Diharmi *et al.* (2011).

Melihat komposisi kimia Iota Karaginan yang banyak, aplikasi karaginan ke dalam makanan sangat menunjang komponen gizi makanan. Selain kandungan kimia di atas, Iota Karaginan memiliki kandungan 3,6 anhidrogalaktosa. Kandungan 3,6 anhidrogalaktosa pada Iota Karaginan adalah indikator pembentukan gel (Setijawati *et al.*, 2011). Menurut Diharmi *et al.* (2011), kandungan sulfat yang tinggi menyebabkan lebih banyak gaya tolak-menolak antara gugus sulfat yang bermuatan negatif sehingga rantai polimer kaku dan tertarik kencang mengakibatkan viskositas meningkat. Hal ini disebabkan karena karaginan jenis *E. spinosum* tidak memiliki kekuatan gel yang tinggi dibandingkan dengan kekuatan gel dari *E. cottonii*. Karakteristik Iota Karaginan menurut Glicksman (1983) terlampir di **Tabel 4**.

Tabel 4. Karakteristik Iota Karaginan

No.	Karakteristik	Jumlah (%)
1.	Ester sulfat	28-35
2.	3,6-anhidro-D-galaktosa	-
3.	Kelarutan	
	Air panas	Larut > 70%
	Air dingin	Larut garam Na ⁺ tidak dalam K ⁺ dan Ca ²⁺
	Suhu panas	Larut
	Suhu dingin	Tidak larut
	Larutan gula	Sulit larut
	Larutan garam	Larut panas
	Pelarutan organik	Tidak larut
4.	Gelasi	
	Pengaruh kation	Gel lebih kuat dengan ion Ca ²⁺
	Tipe gel	Elastis dan tidak sineresis
	Pengaruh locus bean gum	Tidak sineresis
5.	Stabilitas	
	pH netral	Stabil
	Asam (pH 3,5)	Tergantung panas

Sumber : Glicksman (1983).

Aplikasi karaginan dalam kehidupan sehari-hari sudah sangat banyak, terutama dalam bidang pangan. Beberapa produk yang menggunakan karaginan adalah jeli, jamu, saus, permen, sirup, puding, dodol, *salad dressing*, gel ikan, nugget, dan produk susu, digunakan juga pada industri kosmetika, tekstil, cat, obat, dan pakan ternak. Aplikasi makanan membutuhkan karaginan dari *Rhodophyceae* yang mengandung kandungan ester sulfat lebih dari 20% (Hudha *et al.*, 2012).

2.6. Maltodekstrin

Maltodekstrin merupakan produk hidrolisis pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat oleh ikatan 1,4 glikosidik dengan *Dextrose Equivalent* (DE) 5 sampai 20 dengan rumus kimia $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$. DE adalah persen dari gula pereduksi dalam gula yang dihitung sebagai dekstros dalam basis kering. Maltodekstrin merupakan salah satu produk hasil hidrolisa pati yang terdiri dari campuran glukosa, maltosa, oligosakarida, dan dekstrin. Kebanyakan maltodekstrin berwujud kering dan hampir tak berasa. Maltodekstrin dapat dibuat dengan dua cara yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis, untuk tujuan komersial hidrolisis enzim lebih disukai karena produk yang dihasilkan lebih terkontrol dengan DE yang diinginkan. Semakin rendah nilai DE, maka akan semakin non-higroskopis (Fasikhatun, 2010).

Maltodekstrin dengan DE 5-10 dapat diaplikasikan dan dimanfaatkan lebih lanjut karena sifatnya yang higroskopik. Maltodekstrin DE 5-10 dihasilkan dari hidrolisis pati 35% dengan enzim amilase thermamyl selama 90 menit, jika lama hidrolisis lebih dari itu maka didapat DE lebih dari 10, dan hidrolisis kurang dari 30 menit dihasilkan DE kurang dari 5 (Husniati, 2009). Maltodekstrin diperoleh dengan menghidrolisis pati singkong secara parsial dengan enzim α -amilase pada

suhu 85°C selama 65 menit. Bentuk dan ukuran granula pati maltodekstrin mempunyai pola *spherical* berpori dengan diameter sekitar 10-20 µm.



Gambar 2. Maltodekstrin (Fasikhatun, 2010)

Pemanfaatan maltodekstrin dalam produk makanan atau minuman mempunyai peran sebagai penyuplai bahan pemanis nutritif dengan derajat kemanisan rendah namun berkalori yang dibutuhkan anak-anak maupun orang dewasa dimana manusia membutuhkan kalori sebanyak 200-240 kalori per-hari (Shuler, 2002). Maltodekstrin telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam industri makanan, obat-obatan, dan minuman. Menurut Sumanti *et al.*, 2016), penggunaan karbohidrat seperti maltodekstrin sebagai bahan penyalut dapat memperbaiki tekstur pada mikrokapsul serta dapat mempertahankan ketahanan bakteri probiotik.

Kualitas maltodekstrin telah ditentukan oleh Badan Standarisasi Nasional pada tahun 1992 sehingga dalam aplikasinya sudah disesuaikan dengan standar yang ditentukan sebagai syarat sebelum pemakaian. Variabel dan nilai standar mutu maltodekstrin menurut Badan Standarisasi Nasional (1992) dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Variabel dan Nilai Standar Mutu Maltodekstrin

Variabel	Aplikasi	
	Pangan	Non Pangan
Warna (visual)	Putih sampai kekuningan	Putih sampai kekuningan
Kadar air (%b/b)	Maks. 11	Maks. 11
Kadar abu (%b/b)	Maks. 0,5	Maks. 0,5
Serat kasar (%b/b)	Maks. 0,6	-
Dekstrosa	Maks. 5	Maks. 7
Derajat keasaman (0,1 N NaOH/100 g bahan)	Maks. 5	Maks. 6
Kehalusan (ayakan 100 mesh)	Min. 90 (lolos)	-

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (1992).

Berikut adalah beberapa penelitian terdahulu tentang penggunaan maltodekstrin sebagai bahan penyalut mikrokapsul berbagai macam bakteri, dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Beberapa Penelitian Terdahulu Penggunaan Maltodekstrin

Peneliti	Bakteri/Metode	Penyalut	Viabilitas
Permatasari <i>et al.</i> (2002)	<i>L. rhamnosus</i> SKG 34/spray drying	Maltodekstrin	$4,78 \times 10^7 \pm 0,31$
Sumanti <i>et al.</i> (2016)	<i>Lactobacillus plantarum</i> /spray drying	Maltodekstrin 10% dan susu skim 20%	97,76%
Pradipta <i>et al.</i> (2017)	<i>L. murinus</i> , <i>S. thermophilus</i> dan <i>P. acidilactici</i> /spray drying	Maltodekstrin dan susu skim (20% b/v)	83,94%, 90,53%, dan 93,89%
Ula (2016)	<i>Bifidobacterium bifidum</i> /oven vakum	Maltodekstrin 3% dan iota karaginan 3,5%	7,8 log cfu/g
Magfirah <i>et al.</i> (2001)	Isolat probiotik/spray drying	Gum Arab 10% dan Maltodekstrin 10%	4,2 log cfu/g

Sumber: Permatasari *et al.* (2002), Sumanti *et al.* (2016), Pradipta *et al.* (2017),

Ula (2016), Magfirah *et al.* (2001)

2.7. Es Krim Cokelat

2.7.1. Definisi Es Krim

Es krim adalah produk olahan susu yang dibuat melalui proses pembekuan dan *agitasi* (pengadukan) dengan prinsip membentuk rongga udara pada

campuran bahan es krim (*Ice Cream Mix/ ICM*) sehingga dihasilkan pengembangan volume es krim. ICM pada es krim dapat dibuat dari campuran susu, produk susu, bahan pemanis, bahan penstabil, bahan pengemulsi, serta penambah cita rasa (Susilorini, 2006).

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 01-3713, 1995) es krim didefinisikan sebagai makanan semi padat yang dibuat dengan cara pembekuan campuran susu lemak hewani maupun nabati, gula dengan atau tanpa bahan makanan lain dan bahan makanan yang diizinkan. Syarat mutu yang telah ditetapkan untuk es krim yaitu mengandung lemak minimal 5%, gula yang dihitung sebagai sukrosa minimal 8%, protein minimal 2,7%, dan padatan minimal 3,4%.

Menurut Padaga (2005), es krim yang baik akan lebih tahan terhadap pelelehan pada saat dihidangkan pada suhu kamar. Kecepatan meleleh es krim dipengaruhi oleh komposisi bahan-bahan yang digunakan pada pembuatan *ice cream mix* (ICM). Es krim yang mempunyai kecepatan meleleh rendah atau lambat meleleh, kurang disukai konsumen karena bentuk es krim akan tetap tidak berubah pada suhu kamar sehingga memberi kesan terlalu banyak padatan yang digunakan. Akan tetapi, es krim terlalu cepat meleleh juga kurang disukai karena es krim akan segera mencair pada suhu ruang.

2.7.2. Es Krim Cokelat

Es krim cokelat merupakan diversifikasi dari es krim secara umum yaitu dengan penambahan bubuk kakao/cokelat ke dalam adonan es krim. Komposisi es krim cokelat terdiri dari susu, pemanis (gula), bubuk kakao/cokelat, penstabil, pengemulsi, dan perasa. Bahan-bahan ini dicampur, dipasteurisasi dan dihomogenisasi sebelum dibekukan. Komposisi es krim bervariasi tergantung permintaan pasar namun yang umum adalah produk yang mengandung minimal

10% lemak susu, 20% total padatan susu, pemanis yang aman dan cocok serta penstabil, flavour, dan produk turunan susu (Marshall dan Arbuckle, 2000).

Cokelat merupakan sistem multifase kompleks partikulat dari gula, bubuk kakao, dan komponen susu tertentu, serta fase kontinu dari mentega, lemak susu, dan pengemulsi. Cokelat adalah suspensi kompleks yang terdiri dari sekitar 70% partikel padatan halus (gula dan kakao) dalam fase kontinyu lemak (lemak kakao dan lemak susu) (Fernandes *et al.*, 2013). Cokelat adalah produk berenergi tinggi dengan kandungan karbohidrat, gula, dan lemak sebagai sumber energi utamanya (Philip *et al.*, 2015). Cokelat biasa diproses ke dalam sejumlah bentuk makanan lain seperti es krim, *dessert*, dan kembang gula.

Cokelat memiliki kandungan flavonoid yang baik untuk kesehatan. Flavonoid cokelat terutama katekin dapat meningkatkan kesehatan karena sifat antioksidannya, antihipertensi, antiaterogenik, efek antitrombotik, dan antiinflamasi (Cuenca-garc *et al.*, 2014). Cokelat memiliki banyak manfaat kesehatan kardiovaskular dengan sifatnya sebagai antioksidan yang berasal dari senyawa kimia tumbuhan yang disebut flavonoid, selain itu dapat menekan tekanan darah tinggi dan inflamasi (Steinhaus *et al.*, 2016). Penelitian yang telah dilakukan terhadap efek asupan cokelat pada sistem kardiovaskular yaitu mengurangi urin, mengekskresikan hormon stres (kortisol) dan katekolamin, mengurangi konsentrasi kolesterol, dan mengurangi pelepasan neurotransmitter anandamide dan serotonin, selain itu sifat cokelat berkualitas tinggi mengandung stimulan theobromine dan kafein. Ukuran partikel mikrokapsul probiotik kurang dari 100 μm dapat meningkatkan sifat sensorik, tekstur, dan titik leleh dengan teksturnya yang lembut tanpa sensasi berpasir di lidah (Konar *et al.*, 2016).

Cokelat menjadi salah satu produk makanan yang mampu mengantar bakteri probiotik selain susu. Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa cokelat dapat berfungsi sebagai pengantar probiotik yang baik. Viabilitas *Lactobacillus* dan

Bifidobacterium dalam cokelat hitam sebesar 7,8 log cfu/mL, mengalami peningkatan dari sebelum ditambahkan ke cokelat hitam yakni hanya 5,5 log cfu/mL (Succi *et al.*, 2017). *Lactobacillus acidophilus* NCFM dan *Bifidobacterium lactis* HN019 yang terenkapsulasi dalam cokelat memiliki viabilitas sebesar masing-masing 7,77-8, 77 log cfu/mL dan 6,52-8, 13 log cfu/mL (Lalicic-Petronijevic, 2015). Viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium animalis* pada cokelat semi manis yang disimpan selama 120 hari masing-masing 5,66-5,73 log cfu/mL dan 5,72-5,78 log cfu/mL (Silva *et al.*, 2016). Viabilitas *Bifidobacterium longum* mencapai 8-10 log cfu/g pada dark cokelat. Kehadiran senyawa antioksidan menyebabkan cokelat bisa berfungsi sebagai pembawa probiotik yang lebih baik daripada produk susu (Possemiers *et al.*, 2010).

2.7.3. Komponen Gizi Es Krim Cokelat

Es krim cokelat merupakan kategori makanan yang mudah dicerna oleh tubuh dan pada bahan cokelatnya mengandung vitamin A dan B1 serta beberapa mineral seperti fosfor, zat besi, dan kalsium. Hampir semua jenis es krim merupakan sumber energi (kalori). Pembakaran sukrosa atau gula pasir di dalam tubuh memberikan 3,95 kkal per-gram. Komponen gizi es krim cokelat menurut Marshall dan Arbuckle (2000), dapat dilihat di **Tabel 7**.

Tabel 7. Komponen Gizi Es krim Cokelat

No.	Parameter	Jumlah per 100 gram
1.	Kalori (kal)	207
2.	Protein (g)	4
3.	Lemak (g)	12,5
4.	Karbohidrat (g)	20,6
5.	Kalsium (mg)	123
6.	Fosfor (mg)	99
7.	Besi (mg)	0
8.	Vitamin A (IU)	520
9.	Vitamin B1 (mg)	0,04
10.	Vitamin C	1

Sumber: Marshall dan Arbuckle (2000)

2.7.4. Syarat Mutu Es Krim Cokelat

Berdasarkan SNI 01-3713 (1995), kualitas mutu es krim cokelat dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Syarat Mutu Es Krim Cokelat menurut SNI 01-3713-1995

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
	1.1. Penampakan	-	Normal
	1.2. Bau	-	Normal
	1.3. Rasa	-	Normal
2.	Lemak	% b/b	min. 5,0
3.	Gula dihitung sebagai sakarosa	% b/b	min. 8,0
4.	Protein	% b/b	min. 2,7
5.	Jumlah padatan	% b/b	min. 34
6.	Bahan tambahan makanan		
	6.1. Pewarna tambahan	sesuai dengan SNI. 01-0222-1982	
	6.1. Pewarna tambahan	-	Negative
	6.3. Pemanthap dan pengemulsi	sesuai dengan SNI. 01-0222-1982	
7.	Cemaran logam		
	7.1. Timbal (pb)	mg/kg	maks. 1,0
	7.2. Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 20,0
8.	Cemaran arsen	mg/kg	maks. 0,5
9.	Cemaran mikroba		
	9.1. Angka lempeng total	koloni/g	maks. 105
	9.2. Coliform	APM/g	< 3
	9.3. Salmonella	koloni/25g	Negative
	9.4. Listeria spp	koloni/25g	Negative

Sumber: SNI 01-3713 (1995)

2.7.5. Cara Pembuatan Es Krim Cokelat

Proses pembuatan es krim meliputi penghitungan adonan, persiapan adonan, pencampuran, pasteurisasi, homogenisasi, penuaan, pembekuan, dan pengerasan (Arbuckle, 1986). Penghitungan adonan dilakukan untuk menghitung komposisi bahan baku yang akan digunakan dalam pembuatan es krim. Setelah ditentukan komposisinya, semua bahan disiapkan lalu dilakukan pencampuran. Mula-mula bahan padat dan bahan cair dicampur secara terpisah sehingga masing-masing bahan tercampur secara homogen. Kemudian campuran bahan-bahan padat tersebut dimasukkan ke dalam bahan-bahan cair.

Pemanasan bahan dapat dilakukan dengan pasteurisasi. Pasteurisasi yang dilakukan pada adonan es krim dapat membunuh sebagian besar mikroba, terutama dari golongan patogen, melarutkan dan membantu pencampuran bahan-bahan penyusun, memperbaiki citarasa, menghasilkan produk yang seragam, dan memperpanjang umur produk dengan mutu yang baik (Arbuckle, 1986). Tujuan utama pasteurisasi adalah membunuh mikroba patogen, melarutkan bahan-bahan kering, meningkatkan citarasa, memperbaiki mutu es krim dan menghasilkan produk yang seragam (Desrosier dan Tressler, 1977). Pasteurisasi standar es krim yang direkomendasikan *Food and Drug Administration* (FDA) adalah 68,3°C selama 30 menit, 79,4°C selama 25 detik, atau 100°C selama beberapa detik (Eckles *et al.*, 1984).

Proses selanjutnya adalah homogenisasi. Tujuan dari proses homogenisasi adalah untuk membentuk adonan yang seragam dan permanen dengan cara mereduksi ukuran butiran lemak hingga diameternya tidak lebih dari 2 mikrometer, membantu pencampuran adonan, memperbaiki tekstur dan penerimaan es krim, mereduksi waktu *aging*, meningkatkan pengembangan serta menghasilkan produk yang seragam (Desrosier dan Tressler, 1977). Menurut Arbuckle (1986), adonan es krim dihomogenisasi pada suhu 63-77°C. Hal ini

dikarenakan proses homogenisasi pada suhu rendah dapat meningkatkan pembentukan gumpalan globula lemak, meningkatkan viskositas dan meningkatkan waktu pembekuan adonan es krim. Adonan es krim yang telah dihomogenisasi harus segera didinginkan hingga suhu 4°C agar tekstur es krim menjadi halus, mencegah pertumbuhan mikroba dan reaksi-reaksi kimia yang mungkin terjadi (Arbuckle, 1986).

Potter dan Hotchkiss (1995) mengatakan penuaan biasanya dilakukan selama 3-24 jam pada suhu 4,4°C atau lebih rendah. Selang waktu penuaan tergantung dari formulasi yang digunakan terutama pemilihan stabilizer yang digunakan. Beberapa formula tidak memerlukan waktu penuaan yang lama dan dapat langsung mengalami proses *freezing* di *votator*. Jika dalam proses pembuatan es krim digunakan gelatin sebagai bahan penstabil, proses *aging* perlu dilakukan paling sedikit selama empat jam (Desrosier dan Tressler, 1977). Beberapa perubahan yang terjadi selama proses penuaan antara lain lemak menjadi lebih padat, gelatin akan bergabung dengan air, protein dalam adonan es krim mengalami sedikit perubahan, dan viskositas adonan es krim meningkat (Arbuckle, 1986).

Proses pembekuan dilakukan dengan cepat untuk mengurangi ukuran kristal es dan membentuk tekstur yang halus. Selama proses pembekuan, suhu adonan diturunkan dari suhu *aging* ke suhu pembekuan. Dalam pembekuan terdapat empat fase, yaitu (1) penurunan suhu dari suhu *aging* ke suhu pembekuan (-2,5°C sampai -12°C), (2) pembekuan sebagian air dalam adonan, (3) penangkapan udara ke dalam adonan, dan (4) pengerasan es krim (Desrosier dan Tressler, 1977).

Agar es krim siap dikonsumsi, es krim perlu mengalami proses pengerasan. Menurut Campbell dan Marshall (1975), proses pengerasan dapat dianggap cukup bila suhu di bagian tengah produk telah mencapai -18°C.

Lamanya proses pengerasan tergantung pada ukuran dan bentuk kemasan, luas permukaan kemasan, suhu medium pendingin, kecepatan pergerakan udara pendingin, dan suhu awal produk. Proses pengerasan es krim dapat dilakukan dengan menyimpan es krim di dalam ruangan bersuhu -20°C sampai -50°C selama minimum 4 jam.

2.7.6. Karakteristik Fisik Es Krim Cokelat

Menurut Masdiana Padaga (2005), kriteria es krim yang berkualitas adalah kecepatan meleleh dimana es krim yang baik akan lebih tahan lama terhadap pelelehan pada saat dihidangkan pada suhu kamar. Tekstur es krim yang berkualitas baik adalah tidak keras, lembut dan tampak mengilat. Tekstur lembut es krim sangat dipengaruhi oleh komposisi *ice cream mix* (ICM), cara mengolah, dan kondisi suhu penyimpanan. Rasa es krim yang baik adalah manis dan lembut. Warna pada es krim sesuai dengan warna bahan yang digunakan dan aromanya sesuai dengan bahan yang digunakan.

2.7.7. Es Krim Cokelat Berprobiotik

Produk olahan cokelat banyak ditemukan dengan berbagai macam bentuk dan kreasi salah satunya adalah es krim cokelat. Cokelat mengandung beberapa vitamin seperti vitamin A, B1, C, D, dan E (Wahyudi *et al.*, 2008). Selain itu cokelat juga mengandung tiramin, phenyletylamine, kafein, dan teobromin yang dapat memberikan efek fisiologis yaitu rasa senang (aphrodisial) setelah mengkonsumsinya. Cokelat mengandung berbagai bioaktif senyawa seperti polifenol dan flavonoid (yaitu katekin, epicatechin, dan procyanidin), keduanya memiliki tingkat aktivitas antioksidan tinggi. Cokelat yang mengandung probiotik menjadi makanan fungsional yang baru karena menggabungkan manfaat kesehatan probiotik dan senyawa fenolik cokelat (Silva *et al.*, 2016).

Terlepas dari manfaat kesehatan dari cokelat yang mengandung banyak senyawa bioaktif, cokelat juga berpotensi sebagai pembawa probiotik untuk menambah nilai kesehatan cokelat dalam tubuh manusia. Sejalan dengan pernyataan Laličić-Petronijević *et al.* (2015) yang mengatakan bahwa cokelat adalah pembawa yang ideal untuk melindungi sel probiotik selama penyimpanan dan meningkatkan kemampuan sel probiotik mentoleransi patogen yang merugikan lingkungan saluran gastrointestinal. Pengolahan cokelat sebagai pangan fungsional dapat dikombinasikan dengan bahan lain yang memiliki manfaat fungsional yaitu probiotik (Efendi dan Hardjosuwito, 1988). Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas probiotik pada olahan cokelat mencapai 8 log cfu/g, daya tahan hidup probiotik bergantung pada strain probiotik, jenis cokelat, dan suhu dan lamanya penyimpanan (Kemsawasd *et al.*, 2016). Strain probiotik yang dienkapsulasi ke dalam cokelat bisa menjadi media yang sangat baik untuk melindungi mereka dari lingkungan kondisi stres dalam cokelat, fraksi lipid dari mentega kakao terbukti protektif untuk *Bifidobacterium*. Konsumsi 20 g cokelat dengan probiotik, jumlah bakteri menguntungkan yang masuk naik 1 log, yang tentu saja merupakan keuntungan (Burgain dan Scher, 2011).

Lapisan probiotik dalam cokelat adalah solusi yang sangat baik untuk melindungi dari kondisi stres lingkungan dan untuk pengiriman ke pencernaan yang optimal (Possemiers *et al.*, 2010). Proses pembuatan es krim cokelat probiotik harus benar agar probiotik yang ditambahkan tidak mati akibat kesalahan proses atau kondisi es krim cokelat yang kurang menguntungkan bagi probiotik.

3. METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

3.1.1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu pada proses pembuatan SRC iota digunakan baskom, beaker glass ukuran 1000 mL, gelas ukur 100 mL, waterbath, nampan, timbangan analitik, oven, blender, ayakan 100 mesh, dan pH paper. Pembuatan mikrokapsul digunakan alat oven vakum, hot plate stirrer, magnetic stirrer, pipet volume, timbangan digital, spatula, gelas ukur, thermometer, spuit 5 mL, beaker glass 250 mL, beaker glass 500 mL, beaker glass 1000 mL, loyang, washing bottle, alcohol sprayer, vortex mixer, dan spatula. Pembuatan es krim coklat digunakan peralatan kompor, mixer, panci, hot plate stirrer, solet, mangkuk, baskom, sendok, piring, timbangan digital, *homogenizer*, *ice cream votator*, *refrigerator*, *freezer*, *stopwatch*. Uji organoleptik digunakan cup kertas untuk wadah sampel serta lembar kuisioner untuk panelis. Peralatan yang digunakan pada penelitian utama (uji vabilitas *B. bifidum*) adalah inkubator, vortex mixer, cawan petri, pipet serologis, shaker incubator, toples, lilin, tabung reaksi, stomaker, timbangan digital, dan erlenmeyer.

3.1.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu untuk pembuatan SRC iota adalah rumput laut *E. spinosum* umur panen 45 hari yang berasal dari perairan Kabupaten Sumenep, Madura berupa rumput laut setengah kering, aquades, Ca(OH)_2 , dan CaCl_2 . Bahan yang digunakan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat jenis *B. bifidum* yang diperoleh dari stok Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bahan untuk pembuatan mikrokapsul adalah SRC iota, maltodekstrin merk lokal, KCl 3,9 M, aquades, dan

kultur bakteri *B. bifidum*. Bahan untuk pembuatan es krim coklat yaitu susu skim, sukrosa, *emulsifier* merk SP, tepung maizena, coklat batang merk Alfa, dan air. Bahan pada penelitian utama untuk pengujian viabilitas *B. bifidum* antara lain sodium sitrat merk Multiwarna produksi Indo Food Chem, *Man Ragosa Sharpe Agar* (MRSA), *Man Ragosa Sharpe Broth* (MRSB) produksi EMD Millipore Corp. Jerman, aquades, alkohol 70%, spirtus, plastik wrap, dan kapas.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Metode

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu metode eksperimen. Metode eksperimen dilakukan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja pada objek penelitian untuk mengetahui akibatnya pada variabel terikat. Setyanto (2015) mendefinisikan eksperimen sebagai suatu penelitian yang dengan sengaja peneliti melakukan manipulasi terhadap satu atau lebih variabel dengan suatu cara tertentu sehingga berpengaruh pada satu atau lebih variabel lain yang diukur.

3.2.2. Variabel Penelitian

Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : perbedaan konsentrasi mikrokapsul *B. bifidum*

Variabel terikat : viabilitas *B. bifidum* dan karakteristik organoleptik es krim coklat berprobiotik

3.2.3. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian bertujuan untuk mengetahui hasil viabilitas *Bifidobacterium bifidum* tertinggi yang terenkapsulasi pada es krim coklat. Menurut Hanafiah (2009), penentuan banyaknya ulangan menggunakan rumus seperti berikut.

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan : t = Treatment / perlakuan

r = Replikasi / ulangan

sehingga banyaknya ulangan pada penelitian ini dapat dihitung sebagai berikut :

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3(r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 5$$

$$r \geq 6$$

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Adapun desain rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Model Rancangan Percobaan dalam Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
K1	(K1)1	(K1)2	(K1)3	(K1)4	(K1)5	(K1)6
K2	(K2)1	(K2)2	(K2)3	(K2)4	(K2)5	(K2)6
K3	(K3)1	(K3)2	(K3)3	(K3)4	(K3)5	(K3)6
K4	(K4)1	(K4)2	(K4)3	(K4)4	(K4)5	(K4)6

Keterangan :

K1 : Es krim coklat dengan penambahan sel bebas *B. bifidum*

K2 : Es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *B. bifidum* 2%

K3 : Es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *B. bifidum* 6%

K4 : Es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *B. bifidum* 10%

Analisis data yang digunakan untuk uji viabilitas, *overrun*, total padatan, dan daya leleh adalah analisis sidik ragam (ANOVA), sedangkan untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan terhadap parameter yang diuji akan menggunakan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% ($\alpha=0,05$). Setelah diketahui hasil, selanjutnya dilakukan penarikan kesimpulan. Kesimpulan dari uji ANOVA adalah sebagai berikut.

- Jika F hitung $>$ F tabel 5% berarti berbeda nyata atau sangat nyata, artinya penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi yang berbeda memberi pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter uji
- Jika F hitung $<$ F tabel 5% berarti tidak berbeda nyata, artinya penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi yang berbeda tidak memberi pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter uji.

Sedangkan uji yang digunakan untuk analisis data organoleptik adalah uji Kruskal Wallis. Hasil akhir dari uji Kruskal Wallis adalah nilai Asymp. Sig. Kesimpulan dari uji Kruskal Wallis adalah sebagai berikut.

- Jika nilai Asymp. Sig. $>$ 0,05 maka tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan.
- Jika nilai Asymp. Sig. $<$ 0,05 maka ada perbedaan nyata antar perlakuan.

3.3. Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan terdiri dari pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota, penentuan konsentrasi mikrokapsul dan formulasi es krim coklat terbaik yang selanjutnya digunakan untuk penelitian utama.

3.3.1.1. Persiapan Kultur Bakteri (Harmayani *et al.*, 2001)

Kultur bakteri probiotik yaitu *Lactobacillus acidophilus* diperoleh dari Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Pembuatan biomassa bakteri probiotik mengacu pada Harmayani *et al.*, (2001), kultur bakteri ditumbuhkan pada agar miring MRSA (*De Man, Rogosa, Sharpe Agar*) (Oxoid, Inggris), kemudian diambil sebanyak satu ose probiotik untuk ditumbuhkan pada media MRSB (Oxoid, Inggris) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya diambil sebanyak 1 mL untuk ditumbuhkan kembali dalam 1000 mL media MRSB yang akan digunakan untuk produksi biomassa. Biomassa yang dihasilkan kemudian dipanen menggunakan alat sentrifugasi

5000 × g selama 20 menit. Selanjutnya, biomassa dicuci dua kali menggunakan 0,1 M buffer fosfat. Konsentrasi biomassa yang dihasilkan adalah 9 Log CFU mL⁻¹. Skema pembuatan kultur bakteri dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

3.3.1.2. Pembuatan *Semi Refined Carrageenan (SRC) Iota (Setijawati et al., 2012)*

Rumput laut jenis *E. spinosum* dicuci hingga bersih lalu dijemur sampai kering. Rumput laut ditimbang sebanyak 5% dari volume aquades yang digunakan dan disiapkan larutan Ca(OH)₂ 6%. Ekstraksi dalam waterbath selama 90 menit pada suhu 80°C lalu ditambahkan CaCl₂ 0,75%. Kemudian disaring dengan kain blacu hingga didapat residu. Pencucian dengan air mengalir hingga bau larutan alkali hilang (pH netral) kemudian dipotong-potong kecil dan dioven selama 24 jam (hingga kering) dengan suhu 60°C. Kemudian dihaluskan dengan blender lalu dilakukan pengayakan ukuran 100 mesh hingga mendapatkan serbuk SRC.

3.3.1.3. Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode Gel Partikel (Manojlovic et al., 2010 dan Setijawati et al., 2012)

Ditimbang SRC Iota dan maltodekstrin kemudian dilarutkan dalam 30 mL aquades. Dipanaskan dengan hot plate hingga suhu 96°C, diaduk dengan magnetic stirrer 500 rpm (5-6 menit). Setelah homogen, diturunkan suhunya hingga 42°C. Sol SRC yang didapat lalu dimasukkan kultur *B. bifidum* ke dalam sol karaginan sebanyak perbandingan (1:1) sambil diaduk hingga homogen dengan magnetic stirrer 1000 rpm selama 10 menit. Dilakukan pengestrusian campuran bakteri dan sol karaginan ke dalam 75 mL larutan KCL 3,9 M menggunakan spuit 5 mL dan didiamkan 30 menit. Mikrokapsul basah pada larutan lalu disaring dengan kertas saring hingga didapat mikrokapsul basah dan dipindahkan ke nampan. Mikrokapsul basah dioven vakum dengan suhu 40°C

selama 24-48 jam. Mikrokapsul dibuat dalam tiga konsentrasi, yaitu iota 2,5% (E1), 3,5% (E2), dan 4,5% (E3) dengan penambahan maltodekstrin masing-masing 3%.

3.3.1.4. Formulasi Es Krim Cokelat (Masykuri dan Ardila, 2012)

Formulasi adonan yang dibuat atau diinginkan adalah es krim cokelat berkadar lemak 15,0%, bahan padat tanpa lemak 12,0%, pemanis 15,0%, penstabil 0,3%, pengemulsi SP 1,0%, air 50% dan penambah cita rasa cokelat 10 gram atau lebih per 100 gram adonan. Es krim cokelat probiotik kontrol (tanpa mikrokapsul) dibuat dengan cara menambahkan 6 mL kultur dalam 100 gram adonan. Untuk penelitian pendahuluan mikrokapsul yang ditambahkan ke dalam es krim cokelat adalah 4 g untuk masing-masing konsentrasi mikrokapsul (E1, E2, dan E3). Sedangkan untuk penelitian utama mikrokapsul yang ditambahkan ke dalam es krim cokelat adalah 2%, 6%, dan 10% dengan konsentrasi iota dan maltodekstrin terbaik yang didapat dari hasil penelitian pendahuluan.

Setelah ditentukan komposisinya, semua bahan disiapkan lalu dilakukan pencampuran. Mula-mula semua bahan dicampur satu persatu dalam air hingga masing-masing bahan tercampur secara homogen. Kemudian dilakukan pemanasan dengan pasteurisasi, untuk membantu melarutkan bahan-bahan padat dan membunuh mikroba patogen. Selanjutnya adalah proses pendinginan adonan kemudian dihomogenisasi dan ditambahkan mikrokapsul *B. bifidum* sesuai konsentrasi. Kemudian adonan es krim probiotik dituang pada cup kertas untuk selanjutnya dibekukan dan disimpan pada suhu 4°C sampai -30°C. Formulasi pembuatan es krim cokelat berprobiotik dapat dilihat pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Formulasi Es Krim Cokelat

Bahan	Komposisi (%)
Susu skim	15
Tepung maizena	12
Gula	12
Emulsi SP	1
Cokelat batang	10
Air	50

3.3.2. Penelitian Utama

3.3.2.1. Viabilitas *B. bifidum* (Chavarri *et al.*, 2010)

Pengujian viabilitas sel bakteri asam laktat *B. bifidum* dilakukan pada media MRSA dengan metode tuang (*plate count*) dengan pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-7} . Kultur awal yang digunakan adalah *B. bifidum* dengan kepadatan 10^9 . Diambil mikrokapsul 0,1 g lalu dimasukkan ke dalam 10 mL larutan sodium sitrat. Dihomogenkan menggunakan vortex mixer selama 10 menit. Sebanyak 1 mL kultur diencerkan hingga pengenceran 10^{-7} , sebanyak 1 mL hasil pengenceran ditanam (10^{-2} - 10^{-7}) ke dalam cawan petri kemudian dituang media MRSA ke atasnya, lalu digoyang-goyang agar merata dan selanjutnya diinkubasi secara anaerob dengan inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam (2 hari). Sedangkan pengujian viabilitas sel bakteri asam laktat *B. bifidum* pada produk es krim coklat yaitu 15 g es krim coklat probiotik dihancurkan dengan *stomaker* kemudian dilarutkan dengan 135 mL larutan sodium sitrat. Sebanyak 1 mL dari larutan tersebut diinokulasikan ke dalam cawan lalu ditambahkan media MRSA dan cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-72 jam kondisi anaerob. Dihitung koloni bakteri sebagai cfu/mL yang diperoleh dengan perhitungan TPC.

3.3.2.2. Analisis Organoleptik (Suryono *et al.*, 2005)

Uji organoleptik es krim coklat melibatkan 20 panelis dengan rentang usia panelis 19-24 tahun. Panelis berada di laboratorium, mengenakan jas lab dan sarung tangan. Panelis diminta memberi tanggapan atau respon kesukaan terhadap parameter rasa, tekstur, aroma, dan warna dari es krim coklat dengan memberi angka (skala hedonik 1-7) sesuai tingkat kesukaannya pada lembar quisoner. Uji hedonik es krim coklat dilakukan dengan menggunakan skala hedonik. Skala hedonik merupakan skala penunjuk tingkat kesukaan panelis terhadap bau, rasa, tekstur, dan warna yang diwakili oleh nilai (angka) dengan

skala 1 sampai 7. Menurut Suryono *et al.* (2005), skala hedonik dan keterangannya yang digunakan adalah (1) sangat tidak suka, (2) tidak suka, (3) agak tidak suka, (4) biasa, (5) agak suka, (6) suka, dan (7) sangat suka.

3.3.3. Parameter Uji Mikrokapsul

3.3.3.1. *Fourier Transform Infra Red (FTIR)* (Simorangkir *et al.*, 2016)

Pengujian *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Tujuan dari pengujian FT-IR adalah untuk mengetahui gugus fungsional yang terdapat pada *semi refined carrageenan* (SRC) iota yang didapatkan dari hasil ekstraksi rumput laut jenis *Eucheuma spinosum*. *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui hasil spektrum yang dihasilkan oleh transformasi infrared. Sedangkan spektrum infrared sendiri diperoleh dari penstransmisian cahaya yang melewati sampel kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}). Prinsip kerja dari spektrofotometer ini adalah dengan menggunakan metode absorpsi dimana berdasarkan pada perbedaan penyerapan radiasi infrared.

Prosedur kerja analisa *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) yaitu sebagai berikut :

- Dilakukan preparasi sampel dengan menimbang serbuk KBr halus 0,1 g
- Ditimbang sampel padat kering 1% dari berat KBr
- Dicampurkan serbuk KBr dan sampel dalam *mortal agate* sampai halus dan homogen
- Campuran yang sudah homogen kemudian dibuat pellet KBr dengan alat *Mini Hand Press*
- Setelah terbentuk pelet siap dianalisis

Alat yang digunakan untuk pengujian FT-IR adalah Shimadzu FTIR-8400.

Cara pengoperasiannya yaitu :

- Dihubungkan dengan sumber listrik kemudian tekan “ON” pada alat dan komputer
- Klik ganda shortcut Shimadzu FTIR-8400, tunggu beberapa saat sampai keluar “dialogbox” klik OK
- Layar komputer akan muncul menu “instrument” lalu klik FTIR 840010
- Untuk memulai pengukuran dengan klik “BKGStart” di layar akan muncul gambar spektra kemudian tunggu sampai spektra hilang
- Pengukuran dilakukan dengan menempatkan sampel siap ukur pada tempat sampel dari alat interferometer
- Kemudian klik “Sample Start” tunggu sampai diperoleh spektra
- Untuk memunculkan bilangan gelombang, klik “Peak Table” pada menu “Calc” tentukan Treshold dan Noise Level untuk pemunculan bilangan gelombang

Kemudian klik “Print” pada menu “File” untuk mendapatkan printout.

Hasil pengujian FT-IR dari *Semi Refined Carrageenan (SRC) Eucheuma spinosum* dan Maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 3, 4, dan 5**.

3.3.3.2. Pewarnaan Gram (Ibrahim *et al.*, 2015)

Pada Pengujian pewarnaan gram langkah awal adalah membersihkan *preparat glass* dengan alkohol 70% kemudian difiksasi di atas bunsen, setelah itu dipijarkan jarum ose dan dicelupkan ke akuades lalu diberi juga sedikit akuades pada *preparat glass* menggunakan jarum ose, lalu jarum ose dipijarkan kembali dan diambil bakteri dari media MRSA yang telah ditumbuhi bakteri lalu diratakan di atas *preparat glass*, kemudian dikeringkan dan diangin-anginkan preparatnya, dan ditetaskan larutan zat warna *crystal violet* 2-3 tetes dan didiamkan selama 1

menit. Selanjutnya dikeringkan dan diangin-anginkan lagi preparatnya, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, ditetaskan dengan larutan Lugol dan dibiarkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan diangin-anginkan. Kemudian dicuci dengan alkohol 95% selama 30 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, diberi larutan *basic fuchsin* atau *safranin* selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan kemudian diamati di bawah mikroskop.

3.3.3.3. Diameter Mikrokapsul (Purwaningsih *et al.*, 2010)

Pengujian diameter mikrokapsul dilakukan dengan menggunakan mikroskop optik yang dilengkapi kamera digital. Preparat dilihat dan diambil gambarnya dengan perbesaran lensa objektif 40 kali. Cara penggunaan mikroskop optik adalah sebagai berikut :

- Dibersihkan *objek glass* dan *cover glass* dengan aquades lalu dilap tisu
- Diletakkan serbuk mikrokapsul pada *objek glass*
- Diratakan dengan menggunakan sendok bahan
- Diletakkan *cover glass* (sudut 45°) agar tidak timbul gelembung pada preparat
- Diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 40 kali
- Dilakukan pengamatan diameter dengan klik “Menu” pilih diameter klik “OK”
- Diamati hingga muncul gambar yang sesuai. Atur diameter sampel dengan cara arahkan kursor pada sampel yang akan diukur kemudian klik “OK”
- Difoto gambar yang dipilih dengan tekan tombol “Expose” tunggu lampu ekspose menjadi hijau kemudian foto telah disimpan dan dilakukan pengukuran diameter sampel selanjutnya dengan cara klik mode 3x.

3.3.3.4. Pengujian Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Pada analisa kadar air digunakan untuk dapat mengetahui jumlah air yang terkandung dalam suatu bahan dan produk pangan. Pada pengujian kadar air

ditimbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya, lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 100 – 105 °C selama 3-5 jam. Setelah itu dikeringkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Dihitung persentase kadar air dalam bahan menggunakan rumus :

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

Dimana:

A = Berat kering botol timbang (g)

B = Berat kering botol timbang dan sampel awal (g)

C = Berat kering botol timbang dan sampel setelah dikeringkan (g).

3.3.3.5. Aktifitas Air (a_w) (Rifani *et al.*, 2016)

Aktifitas air (a_w) adalah air bebas yang terdapat dalam bahan pangan yang bisa dipakai untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri mempunyai a_w minimum yang dapat digunakan untuk pertumbuhannya yaitu pada a_w 0,90. Bahan yang baik untuk penyimpanan yang baik memiliki kadar a_w dibawah 70%. Prosedur kerja pengujian a_w adalah sebagai berikut :

- Dilakukan kalibrasi alat a_w meter dengan cara memasukkan larutan $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ dan ditutup kemudian dibiarkan selama 3 menit hingga menunjukkan angka 0,9
- Dibuka a_w meter kemudian dimasukkan sampel ke dalamnya
- Ditutup alat dan ditunggu selama 3 menit.
- Dibaca dan dicatat skala a_w meter. Jika skala temperatur diatas 20 °C, maka pembacaan skala a_w ditambahkan sebanyak kelebihan temperatur dikalikan dengan faktor koreksi sebesar 0,002, begitu pula dengan temperatur di bawah 20°C.

3.3.4. Parameter Uji Es Krim Cokelat

3.3.4.1. Analisis Proksimat

Menurut Afrianto dan Liviawaty (2005), analisis proksimat ditunjukkan untuk mengetahui persentase nutrien dalam pakan berdasarkan sifat kimianya, di antaranya kadar air, protein, lemak, serat, ekstrak bebas nitrogen dan abu. Analisis proksimat banyak digunakan untuk menentukan kualitas bahan pangan karena prosedurnya mudah dan relatif murah.

Kandungan nutrien bahan pangan dapat diketahui dengan mengurai (menganalisis) komponen pangan dan pakan secara kimia. Teknik analisis yang umum untuk mengetahui kadar nutrien dalam pangan atau pakan adalah Analisis Proksimat (*Proximate analysis*) atau metode Weende. Analisis Proksimat ditemukan sekitar 100 tahun yang lalu di pusat eksperimen Weende (*Weende Experiment Station*) Jerman oleh dua ilmuwan Henneberg dan Stohmann. Metode ini tidak menguraikan kandungan nutrien secara rinci namun berupa nilai perkiraan sehingga disebut analisis proksimat.

3.3.4.2. *Overrun*

Pengembangan volume es krim dinyatakan sebagai nilai *overrun* dan dihitung berdasarkan perbedaan volume adonan mulamula dengan volume es krim yang terbentuk. Nilai *overrun* dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Overrun} = \frac{V_1 - V_2}{V_2} \times 100\%$$

Dimana: V1 = volume es krim yang terbentuk

V2 = volume adonan es krim

3.3.4.3. Daya Leleh (Nelson dan Trout, 1951)

Pengukuran daya leleh (waktu pelelehan) didasarkan pada waktu yang dibutuhkan es krim untuk meleleh sempurna dalam suhu ruang. Pengukuran dilakukan dengan mengambil satu sendok es krim bersuhu -20°C dan

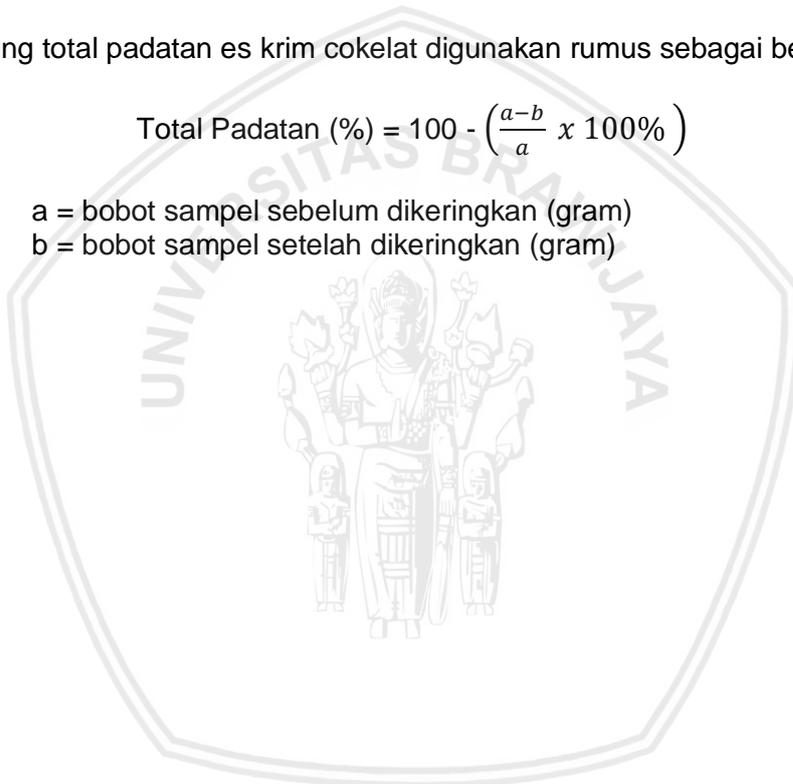
menempatkannya pada piring. Es krim dibiarkan mencair sempurna pada suhu ruang dan waktu lelehnya diukur dengan menggunakan *stopwatch*.

3.3.4.4. Total Padatan (AOAC, 1995)

Penentuan total padatan didasarkan pada penetapan kadar air. Sebanyak 5 gram bahan ditimbang dalam cawan alumunium yang telah diketahui bobot kosongnya. Sampel dipanaskan dalam penangas air selama 30 menit kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 100 °C sampai beratnya konstan. Untuk menghitung total padatan es krim coklat digunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Total Padatan (\%)} = 100 - \left(\frac{a-b}{a} \times 100\% \right)$$

Dimana: a = bobot sampel sebelum dikeringkan (gram)
b = bobot sampel setelah dikeringkan (gram)



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian Pendahuluan

Pada tahap penelitian pendahuluan dilakukan pengujian terhadap 3 (tiga) komponen penting yaitu bahan penyalut, mikrokapsul, dan karakteristik es krim coklat dengan penambahan iota karaginan yakni E2 (2,5% per-100 g bahan), E3 (3,5% per-100 g bahan), dan E4 (4,5% per-100 g bahan) dengan kombinasi penambahan maltodekstrin 3% per-100 g bahan. Hasil terbaik dari penelitian pendahuluan digunakan di penelitian utama. Berikut adalah hasil penelitian pendahuluan.

4.1.1. Analisis Bahan Penyalut

4.1.1.1. *Fourier Transform Infra Red (FTIR) SRC Iota dan Maltodekstrin*

Analisis serapan FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi molekul suatu senyawa yang terkandung dalam sampel. Spektrum FTIR dari SRC Iota dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Spektrum FTIR SRC Iota

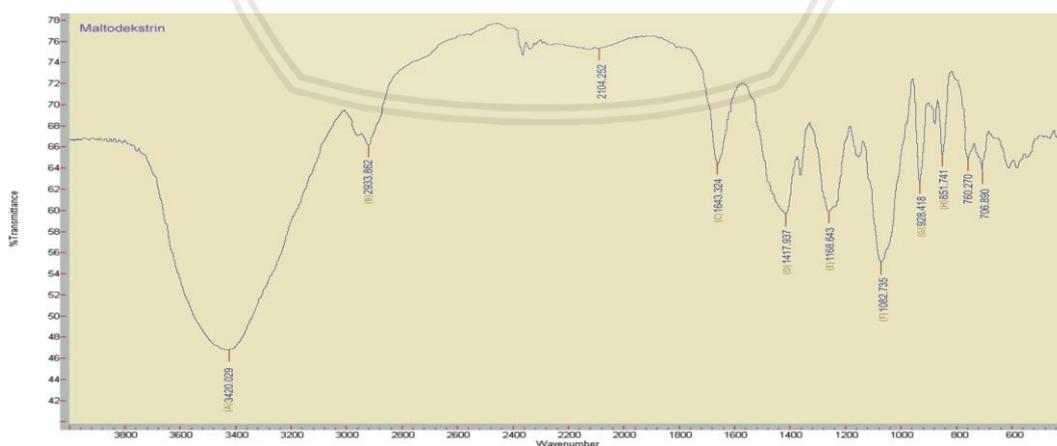
Hasil uji FTIR SRC Iota menunjukkan spektrum dengan nilai yang bervariasi yang telah ditandai dengan kode A, B, C, D, E, F, dan G. Spektrum yang

terbaca mewakili gugus-gugus yang ada pada SRC. Daftar gugus fungsi yang terbaca dari sampel SRC dapat dilihat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR SRC Iota

Kode	Gugus Fungsi	Hasil Penelitian	Diharmi, (2011)
A	Hidroksil (O-H)	3423,648 cm^{-1}	3201,83 cm^{-1}
B	Ester sulfat (O-SO_3^-)	1259.609 cm^{-1}	1210-1260 cm^{-1}
C, D	Ikatan glikosidik ($-\text{CH}_2$)	1072,017, 1039,847 cm^{-1}	1010-1080 cm^{-1}
E	3,6-anhidrogalaktosa	931,388 cm^{-1}	928-933 cm^{-1}
F	D-galaktosa-4-sulfat	849,980 cm^{-1}	840-850 cm^{-1}
G	3,6-anhidrogalaktosa-2-sulfat	803,880 cm^{-1}	800-805 cm^{-1}

Berdasarkan hasil identifikasi spektrofotometri inframerah, dapat dipastikan bahwa SRC yang diuji merupakan karaginan berjenis iota semi murni. Hal ini karena didapatkannya gugus galaktosa 4-sulfat, 3,6-anhidrogalaktosa serta gugus ester sulfat yang merupakan karakteristik iota. Ester sulfat yang ada pada posisi 2 dari anhidrogalaktosa merupakan karakteristik iota karaginan yang digunakan sebagai indikator pembentukan gel. Spektrum 3,6 anhidrogalaktosa 2 sulfat iota karaginan terbaca pada panjang gelombang 802 cm^{-1} , galaktosa 4 sulfat pada 847 cm^{-1} , CH_2 simetris (ikatan glikosidik) pada gelombang 1025 cm^{-1} , ester sulfat pada 1222 cm^{-1} , dan gugus O-H (hidroksil) pada 3380 cm^{-1} (Moniha *et al.*, 2017). Sedangkan hasil identifikasi FTIR maltodekstrin tercantum di **Gambar 4**.



Gambar 4. Spektrum FTIR Maltodekstrin

Hasil uji FTIR maltodekstrin menunjukkan spektrum dengan nilai yang berbeda-beda. Spektrum yang terbaca mewakili gugus-gugus fungsi yang ada

pada maltodekstrin. Gugus-gugus fungsi maltodekstrin yang terbaca dapat dilihat pada **Tabel 12**.

Tabel 12. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR Maltodekstrin

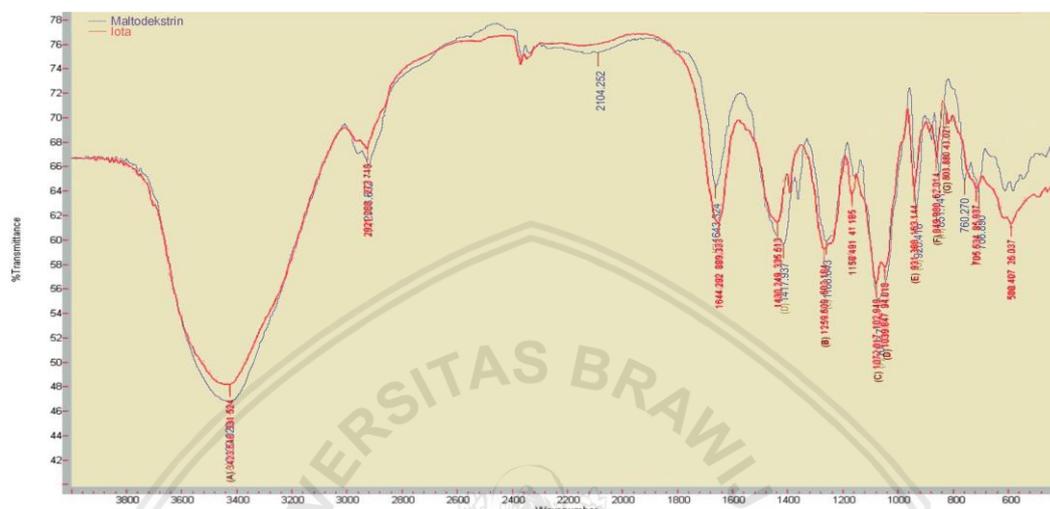
Kode	Gugus Fungsi	Hasil Penelitian	Krishnaiah <i>et al.</i> (2011)
A	O-H	3432,730 cm ⁻¹	3345 cm ⁻¹
B	C-H	2920,899 cm ⁻¹	2936 cm ⁻¹
C	C=O	1640,190 cm ⁻¹	1647 cm ⁻¹
D	-CH ₂	1429,790 cm ⁻¹	1413 cm ⁻¹
E	C-O	1158,222; 1070,585 cm ⁻¹	1150; 1076 cm ⁻¹
F, G	=CH; =CH ₂	929,579 cm ⁻¹	931 cm ⁻¹
H	C-H	847,671 cm ⁻¹	854 cm ⁻¹

Spektrum maltodekstrin sudah sesuai dengan beberapa hasil penelitian terdahulu. Gugus C-H alkana pada gelombang 3000-2850 cm⁻¹, sedangkan gugus O-H alkohol pada gelombang 3500-3200 cm⁻¹ (Radhiyatullah, 2015). Spektrum maltodekstrin menunjukkan pita 1023, 1080 dan 1155 cm⁻¹ berarti peregangan C-O dan regangan COH, regangan 437, 526, 577, 608, 763, 849 dan 930 cm⁻¹ adalah cincin piranoid, CH₃ pada 946 cm⁻¹, COC pada 1242 cm⁻¹, CH₃ pada 1371 cm⁻¹, C=O pada 1756 cm⁻¹, dan regangan 3386 cm⁻¹ yaitu O-H (Smrčková *et al.*, 2013).

Gugus fungsi O-H (hidroksil) pada SRC iota yang terbaca di panjang gelombang 3423,648 cm⁻¹ serta gugus -CH₂ (metilena) pada maltodekstrin di panjang gelombang 929,579 cm⁻¹ membuat SRC iota dan maltodekstrin dapat menyatu membentuk lapisan penyalut karena dapat berinteraksi. SRC iota yang memiliki gugus O-H bereaksi dengan gugus -CH₂ (metilena) dari maltodekstrin membentuk hidrosimetil (HOCH₂). Hidrosimetil di bidang kimia, khususnya dalam kimia organik, adalah nama untuk substituen dengan formula struktural -CH₂-OH. Kelompok hidrosimetil terdiri dari jembatan metilena (-CH₂ unit) yang terikat pada gugus hidroksil (-OH). Hal ini membuat gugus hidrosimetil menjadi alkohol. Ula (2016) menyatakan bahwa SRC iota dan maltodekstrin dapat disatukan karena memiliki gugus yang sama yaitu -CH₂, O-H, dan C-H sehingga menghasilkan penyalut yang kompatibel.

4.2.1.4 Jaringan Interpenetrating Polymer Network (IPN)

Pada **Gambar 5** menunjukkan bahwa kappa *semi refined carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin dapat berikatan silang membentuk jaringan polimer interpenetrasi atau *interpenetrating polymer network* (IPN).



Gambar 5. Jaringan Interpenetrating Polymer Network (IPN)

Kedua bahan polimer tersebut dapat berinterpenetrasi atau saling bertautan satu dengan yang lainnya dan saling mengayam (entanglement) membentuk chain interlocking (rantai yang saling mengunci). Jaringan polimer interpenetrasi atau Interpenetrating Polymer Network (IPN) adalah polimer campuran dimana kombinasi dari dua jenis polimer atau lebih terikat dalam bentuk jaringan tanpa ikatan kovalen antarjaringan atau dengan kata lain dua atau lebih jaringan tersebut akan terjat sedemikian rupa dan tidak dapat dipisahkan, tetapi tidak terikat satu sama lain oleh ikatan kimia (hanya terikat secara fisika) (Lee *et al.*, 1999).

Ikatan silang IPN yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi bahan enkapsulasi. Peningkatan konsentrasi bahan akan meningkatkan jumlah ikatan silang IPN terdekat, selanjutnya jumlah ikatan silang IPN akan mempengaruhi struktur matriks mikroenkapsulasi. Semakin banyak jumlah ikatan silang maka semakin baik kualitas mikroenkapsulasi yang dihasilkan hal ini dikarenakan

adanya ikatan silang IPN yang terbentuk di antara jaringan bahan mampu mengurangi rongga-rongga yang tidak berikatan, sehingga mampu menghambat sineresis dan autohidrolisis ketika menghadapi pH rendah dari lingkungan luar (Setijawati, 2014).

4.1.2. Analisis Mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum*

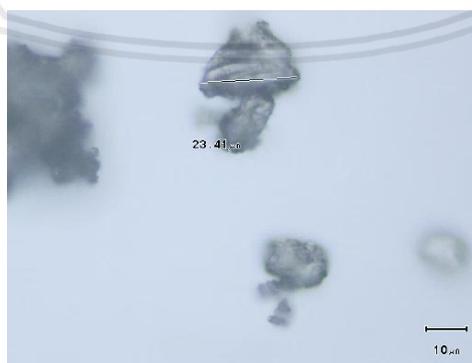
Analisis mikrokapsul *B. bifidum* dilakukan untuk memastikan karakteristik mikrokapsul yang baik sebelum ditambahkan ke dalam es krim coklat. Hasil analisis mikrokapsul *B. bifidum* tercantum pada **Tabel 13**.

Tabel 13. Hasil Analisis Mikrokapsul *B. bifidum*

Parameter	Nilai
Ukuran Partikel Mikrokapsul (Diameter)	22,69±1,54 µm
Kadar Air Mikrokapsul	4,46%±0,15
Aktivitas Air Mikrokapsul	0,66±0,02
Viabilitas Mikrokapsul	6,88 log cfu/mL±0,18

4.1.2.1. Diameter Mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum*

Mikrokapsul probiotik haruslah berdiameter kurang dari 100 µm agar tidak mengganggu tekstur produk. Pengukuran diameter mikrokapsul menggunakan mikroskop optik dengan perbesaran 40 kali. Dokumentasi dari hasil pengamatan dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Diameter Mikrokapsul *B. bifidum*

Hasil pengamatan didapat diameter mikrokapsul *B. bifidum* yang tersalut iota 3,5% dan maltodekstrin 3% yaitu 22,69±1,54 µm. Konsentrasi penyalut yang

sama menyebabkan proses gelasi yang terjadi antara SRC iota dan maltodekstrin menghasilkan ukuran diameter mikrokapsul yang cenderung seragam. Ukuran diameter jarum suntik yang digunakan juga berpengaruh terhadap ukuran partikel mikrokapsul. Kelemahan metode ekstrusi yaitu *inefisiensi* dalam memproduksi mikrosfer (lebih kecil dari 500 μm) (Rathore *et al.*, 2013). Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran mikrosfer yang dihasilkan meliputi diameter lubang, viskositas, jarak dari lubang ke larutan, konsentrasi, dan suhu larutan polimer (Andriola *et al.*, 2011).

Diameter mikrokapsul lebih dari 100 μm menyebabkan produk terasa seperti berpasir di lidah saat dimakan. Diameter mikrokapsul yang lebih kecil dari 100 μm lebih disukai saat diaplikasikan ke makanan (Annan *et al.*, 2008). Mikroenkapsulasi *Bifidobacterium* dengan teknik emulsifikasi berukuran diameter kurang dari 100 μm sehingga terhindar dari dampak negatif ke nilai sensori produk (Tasch *et al.*, 2016). Harrington (2014) melaporkan bahwa diameter mikrokapsul yang mengandung bakteri *B. bifidum* memiliki ukuran antara 14,45 μm sampai 18,78 μm . Risch dan Reineccius (1995) membagi mikroenkapsulat berdasar ukuran menjadi tiga, yaitu makroenkapsulat (>5000 μm), mikroenkapsulat (0,2-5000 μm), dan nanomikroenkapsulat (<0,2 μm). Diameter mikrokapsul *B. bifidum* hasil penelitian berukuran kurang dari 100 μm sehingga dimungkinkan tidak akan mengganggu tekstur es krim coklat berprobiotik.

4.1.2.2. Kadar Air Mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum*

Kadar air merupakan parameter penting yang berhubungan dengan stabilitas produk selama penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar air mikrokapsul *B. bifidum* dengan penyalut SRC iota 3,5% dengan maltodekstrin 3% yaitu sebesar $4,46\% \pm 0,15$. Hasil ini lebih rendah dari penelitian

Ula (2016), kadar air mikrokapsul bakteri *B. bifidum* dengan penyalut SRC iota dan maltodekstrin yang dikeringkan dengan oven vakum berkisar 5,06 - 9,42%.

Rendahnya kadar air mikrokapsul yang didapat diduga karena sifat maltodekstrin yang berviskositas rendah. Maltodekstrin memiliki viskositas yang rendah sehingga lebih sedikit air yang diabsorpsi sehingga mikrokapsul yang dihasilkan mudah mengering (Simanjuntak, 2007). Kadar air mikrokapsul yang rendah bersifat menguntungkan karena air adalah media hidup mikroorganisme sehingga umur simpan mikrokapsul bisa lebih lama. Karakteristik pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh kadar air bahan dimana mikroba akan tumbuh subur dalam bahan yang tingkat airnya tinggi (Aminudin dan Habib, 2009). Rendahnya kadar air juga dimungkinkan karena rendahnya kadar air SRC iota yang digunakan sebagai penyalut. Yulius *et al.* (2016) melaporkan bahwa kadar air tepung karaginan berkisar antara 13,45-14,72%. Proses pengeringan mikrokapsul selama 24-48 jam sangat berperan dalam mereduksi kadar air mikrokapsul karena air pada mikrokapsul basah menguap selama pengovenan. Hasil uji kadar air dapat dilihat di lampiran .

4.1.2.3. Aktivitas Air Mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum*

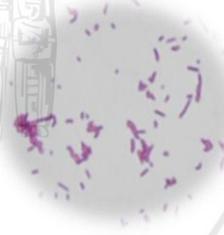
Hasil penelitian nilai aktivitas air (a_w) mikrokapsul bakteri *B. bifidum* tersalut SRC iota 3,5% dan maltodekstrin 3% sebesar $0,66 \pm 0,02$. Nilai a_w mikrokapsul hampir sama dengan beberapa penelitian terdahulu yang sejenis. a_w mikrokapsul *B. bifidum* tersalut kappa-iota-maltodekstrin dengan metode ekstrusi-oven vakum yakni sebesar 0,67 (Veny, 2016). Ula (2016) melaporkan bahwa mikrokapsul *B. bifidum* berpenyalut iota 3,5% dan maltodekstrin 3% dengan menggunakan metode ekstrusi memiliki nilai a_w sebesar 0,76 dan menghasilkan viabilitas sebesar $7,8 \log \text{ cfu/mL}$. Nilai a_w yang tinggi menjadi indikator adanya pelepasan bahan aktif yang jumlahnya lebih besar dari pada nilai a_w yang relatif lebih rendah (Yuliani dan

Harimurti, 2007). Ula (2016) menyatakan bahwa mikrokapsul *B. bifidum* berpenyalut maltodekstrin memiliki nilai a_w sebesar 0,5-0,7. Makin tinggi a_w pada umumnya makin banyak bakteri yang dapat tumbuh, sementara jamur tidak menyukai a_w yang tinggi. Hasil uji aktivitas air dapat dilihat di lampiran.

4.1.2.4. Pewarnaan Gram *B. bifidum*

Pewarnaan gram adalah uji terhadap bakteri yang bertujuan untuk mengetahui bakteri tersebut termasuk gram negatif atau gram positif. Perbedaan ini dilihat berdasarkan komposisi dinding sel dan sifat hasil pewarnaannya. Bakteri yang tergolong gram positif akan berwarna biru (menyerap pewarna kristal violet), sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah karena lebih menyerap pewarna safranin. Hasil pewarnaan gram dengan perbesaran mikroskop 1000x terhadap *B. bifidum* tersaji pada **Tabel 14**.

Tabel 14. Hasil Verifikasi *B. bifidum*

Karakteristik	a	b	c
			
Pewarnaan Gram	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif
Bentuk Morfologi	Batang	Batang	Batang
Warna	Ungu	Ungu	Ungu

Keterangan : a) Sudarsono (2008)
 b) Kusuma (2017)
 c) Hasil Penelitian

Hasil pengamatan morfologi *B. bifidum* didapat bakteri berbentuk batang dengan warna ungu seperti warna pewarna kristal violet. Mengacu pada hasil pengamatan di bawah mikroskop, dapat dipastikan bahwa koloni yang tumbuh adalah *B. bifidum*. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Kusuma (2017) melaporkan bahwa pewarnaan gram terhadap *B. bifidum* memiliki bentuk batang (coccus) bercabang, terlihat seperti huruf V atau Y, serta berwarna ungu. *Bifidobacterium* adalah bakteri gram positif, anaerob, non motil, dan tidak berspora (Ariyani, 2013).

Pemberian zat warna basa kristal violet yang kemudian diberi larutan iodium akan membentuk suatu kompleks antara kristal violet dan iodium. Pencucian dengan alkohol akan mencuci kompleks tersebut, sehingga kompleks tersebut keluar dari dinding sel bakteri gram negatif, sehingga saat diberi pewarna safranin, dinding sel gram negatif akan menyerap safranin dan menjadi berwarna merah. Sementara itu, gram positif tidak ada kompleks yang keluar karena lapisan peptidoglikan pada dinding selnya lebih tebal dan menyebabkan gram positif tidak menyerap warna safranin dan tetap berwarna biru seperti kristal violet (Hadioetomo, 1993).

4.1.3. Kandungan Kimia Es Krim Cokelat

Pengujian kandungan kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia es krim cokelat terbaik yang selanjutnya digunakan untuk penelitian utama. Hasil pengujian kimia es krim cokelat dapat dilihat pada **Tabel 15**.

Tabel 15. Hasil Analisis Kimia Es Krim Cokelat

Parameter	Perlakuan			Rerata \pm SD	SNI (1995)
	E1	E2	E3		
Kadar Air	46,83%	44,76%	45,35%	45,65 \pm 1,06	-
Kadar Lemak	20,18%	19,02%	20,51%	19,96 \pm 0,68	Min 5%
Kadar Karbohidrat	24,21%	26,09%	27,23%	25,84 \pm 1,52	Min 8%
Kadar Protein	3,42%	3,47%	2,96%	3,28 \pm 0,27	Min 2,7%

Keterangan :

E1 = Es krim cokelat dengan penambahan iota karaginan 2,5%

E2 = Es krim cokelat dengan penambahan iota karaginan 3,5%

E3 = Es krim cokelat dengan penambahan iota karaginan 4,5%

Kandungan gizi es krim coklat pada penelitian sudah sesuai dengan syarat gizi yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia tahun 1995. Kadar protein, lemak, dan karbohidrat pada penelitian sudah sesuai dengan hasil penelitian lain yang sejenis. Menurut Susilawati dan Sartika (2017), Analisa proksimat es krim menunjukkan bahwa es krim dengan penambahan konsentrasi tepung umbi suweg mengandung kadar air sebesar 51.48%, kadar protein sebesar 5.96% (b/b), kadar lemak sebesar 9% (b/b), kadar serat kasar sebesar 1.32%, dan kadar karbohidrat sebesar 33.6% (b/b). Berdasarkan pengujian analisa proksimat yang telah dilakukan, kandungan es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul sudah memenuhi standar mutu gizi es krim sesuai SNI 01-3713-1995.

4.1.4. Nilai Organoleptik Es Krim

Analisis organoleptik dengan cara uji hedonik (kesukaan) terhadap 20 panelis non-terlatih terhadap 3 es krim hasil perlakuan dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dari segi sensori produk. Hasil pengujian organoleptik tiga jenis es krim coklat dapat dilihat pada **Tabel 16**.

Tabel 16. Hasil Uji Organoleptik Es Krim Cokelat

Parameter	Rata-rata		
	E1	E2	E3
Tekstur	5,90	6,25	4,80
Rasa	6,10	6,10	5,25
Aroma	5,50	5,70	5,15
Warna	5,75	5,80	5,45

Keterangan :

E1 = Es krim coklat dengan penambahan iota karaginan 2,5%

E2 = Es krim coklat dengan penambahan iota karaginan 3,5%

E3 = Es krim coklat dengan penambahan iota karaginan 4,5%

Rata-rata tertinggi dari semua parameter adalah pada perlakuan E2 dengan rentang nilai rata-rata 5,70 - 6,25 (agak suka hingga suka) baik dari segi tekstur, rasa, aroma, dan warnanya. Sementara itu es krim coklat pada perlakuan E1 memiliki rata-rata tertinggi kedua setelah E3 dengan rentang nilai rata-rata 5,50 - 6,10 (agak suka - suka). Sedangkan perlakuan E3 merupakan perlakuan dengan

tingkat kesukaan terendah setelah perlakuan E1 dan E2 dengan rentang nilai rata-rata 5,15 - 5,45 (agak suka - suka).

Perlakuan E3 merupakan yang paling rendah nilainya, rata-rata panelis merasakan tekstur es krim yang terlalu keras. Begitupun dengan atribut rasa, aroma, dan warnanya, sampel E3 mendapat nilai terendah karena panelis menilai bahwa warnanya terlalu gelap, aroma coklatnya kurang khas, dan rasanya yang kurang disukai, hal ini dimungkinkan karena konsentrasi penambahan mikrokapsul yang terlalu banyak sehingga atribut sensori es krim coklat ini jauh berbeda dengan produk es krim coklat pada umumnya. Sedangkan perlakuan E2 teksturnya paling disukai oleh hampir semua panelis. Cokelat mempunyai cita rasa yang khas, teksturnya berbentuk padat pada suhu kamar, cepat meleleh di mulut, menjadi cair, dan terasa lembut di lidah (Turmala *et al.*, 2012). Es krim coklat E2 paling disukai oleh seluruh panelis, namun seluruh perlakuan mendapat respon agak disukai hingga disukai panelis, artinya tiap perlakuan tidak berbeda nyata nilai sensorinya.

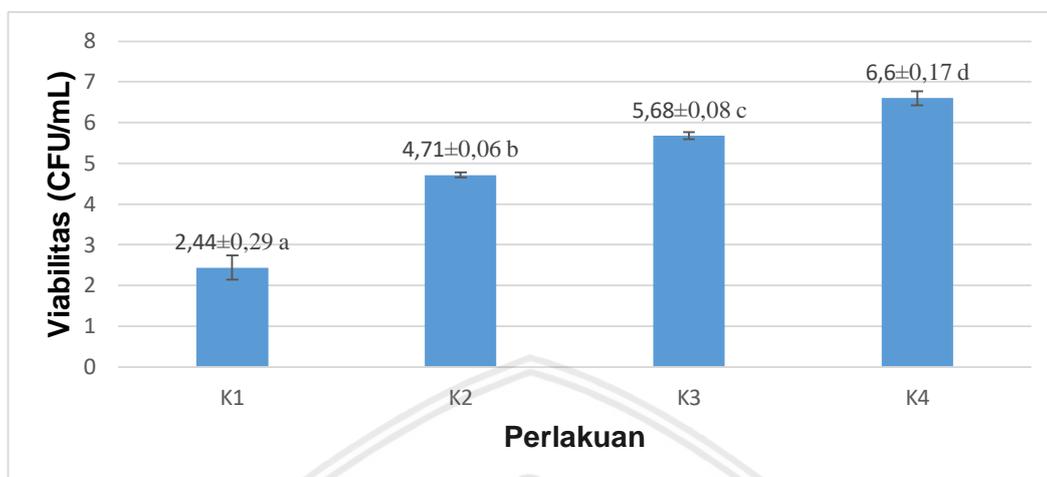
4.2 Penelitian Utama

Tahap penelitian utama dilakukan setelah mendapat kesimpulan tahap penelitian pendahuluan. Berdasarkan pertimbangan pengujian kandungan kimia dan analisis organoleptik es krim coklat, disimpulkan bahwa perlakuan terbaik adalah E2 (penambahan iota sebanyak 3,5% dan maltodekstrin 3%). Maka pada penelitian utama digunakan formulasi E2. Berikut adalah hasil penelitian utama.

4.2.1. Viabilitas *Bifidobacterium bifidum* dalam Es Krim Cokelat

Viabilitas adalah jumlah sel hidup yang diperkirakan sebagai ukuran konsentrasi sel yang ada dalam produk (Kholisoh, 2016). Perhitungan viabilitas digunakan untuk mengetahui kemampuan enkapsulan dalam mempertahankan

jumlah sel bakteri probiotik dalam produk (Osmond *et al.*, 2012). Data viabilitas es krim coklat disajikan pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Viabilitas *B. bifidum* pada Es Krim Cokelat

Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA), penambahan jumlah mikrokapsul yang berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh berbeda nyata ($F_{hitung} > F_{5\%}$) terhadap viabilitas *B. bifidum*. Viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan K4 yakni 6,60 log cfu/mL, sedangkan viabilitas terendah pada perlakuan K1 dengan viabilitas sebesar 2,44 log cfu/mL. Hanya perlakuan K4 (penambahan 10% mikrokapsul) yang menghasilkan viabilitas sesuai batasan FAO (10^6 - 10^7 cfu/mL), sehingga diketahui penambahan mikrokapsul 10% dari total bahan pembuatan es krim coklat sudah mewakili untuk menghasilkan viabilitas yang memenuhi syarat. Cokelat dapat berperan sebagai pembawa probiotik terenkapsulasi yang sangat baik untuk strain *Lactobacillus acidophilus* NCFM dan *Bifidobacterium lactis* HN019 (Lalic, 2015). Analisis sidik ragam viabilitas dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

Tingkat viabilitas perlakuan K4 yang sudah memenuhi syarat FAO diduga karena jumlah mikrokapsul ditambahkan sudah sesuai dan mikrokapsul mampu bekerja dengan baik sehingga stabilitas probiotiknya tinggi. Penambahan mikrokapsul hingga 10% per-100 g produk ke dalam es krim coklat mampu

menjaga stabilitas dan viabilitas *B. bifidum* pada batas minimum FAO. Hal ini menjadi bukti bahwa cokelat mampu menjalankan fungsinya sebagai pengantar probiotik. Penambahan strain probiotik yang dienkapsulasi ke dalam cokelat bisa menjadi media yang sangat baik untuk melindungi mereka dari lingkungan kondisi stres dalam cokelat, fraksi lipid dari mentega kakao terbukti protektif untuk *bifidobakteri* (Konar *et al.*, 2016). Viabilitas probiotik dalam dark cokelat dievaluasi pada suhu $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ menghasilkan viabilitas sekitar 7,8 log cfu/mL, meskipun pada akhirnya *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* menunjukkan penurunan kelangsungan hidup yang signifikan selama penyimpanan (Succi *et al.*, 2017).

Es krim cokelat dengan perlakuan K1 menghasilkan viabilitas $2,44\pm 0,33$ log cfu/mL. Perlakuan K1 yang berviabilitas rendah diduga karena kurangnya penambahan mikrokapsul dan suhu pembekuan es krim cokelat yang mencapai -24°C . *B. bifidum* tumbuh optimum pada suhu $37-41^{\circ}\text{C}$, tidak dapat tumbuh pada suhu di bawah 20°C atau di atas 46°C (Mahmoudi *et al.*, 2016). Diduga fraksi lemak dan polifenol es krim melindungi bakteri dari suhu pengolahan dan keberadaan oksigen sehingga ada beberapa sel yang hidup. Boylston *et al.* (2004) menyatakan bahwa industri pangan mengaplikasikan jumlah minimum konsumsi probiotik yang direkomendasikan (10^6 cfu/mL) untuk *L. acidophilus*, *Bifidobacteria*, dan bakteri probiotik lain. Didukung oleh Aragon-Alegro *et al.* (2007) yang mengungkapkan bahwa konsumsi harian bakteri probiotik sebaiknya melebihi 10^6 bakteri/g produk.

Viabilitas yang rendah pada K2 dan K3 diduga karena terlalu sedikitnya jumlah mikrokapsul yang ditambahkan sehingga banyak bakteri yang mati selama pengolahan es krim probiotik. Probiotik mengalami pertumbuhan optimal pada suhu $35-40^{\circ}\text{C}$, tetapi dapat mentoleransi suhu sampai 46°C yang dapat mematikan bakteri probiotik yang hidup, penggunaan suhu tinggi tidak dianjurkan pada produk probiotik baik dalam bentuk cair maupun kering (Utami, 2013). Faktor utama

penyebab kerusakan akibat pengeringan sel bakteri kemungkinan karena *shock osmotik* dengan kerusakan membran yang berpengaruh terhadap sifat-sifat makromolekul hidrofilik dalam sel (Sumanti *et al.*, 2016).

Menurut Moat dan Foster (1988), suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada umumnya. Temperatur yang ekstrim dapat menyebabkan inaktivasi enzim-enzim dan fungsi struktur sel, seperti membran sel. Menurut Yousef dan Juneja (2003), penurunan temperatur dapat menyebabkan penurunan fluiditas fosfolipid bilayer yang menyusun membran sel. Lebih lanjut dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi senyawa terlarut dalam sel yang dapat mendorong terjadinya *osmotic injury* pada protein sel. Kematian sel akibat pembekuan terutama disebabkan *osmotic injury* protein sel yang menyebabkan kerusakan membran sel dan denaturasi DNA. Kedua hal inilah yang menyebabkan terjadinya penurunan total probiotik *B. bifidum* pada penyimpanan beku. Adaptasi bakteri terhadap suhu rendah merupakan proses aktif yang menyebabkan peningkatan konsentrasi asam lemak tidak jenuh dan sintesis polipeptida. Dengan demikian akan terjadi perubahan kembali komponen asam lemak membran sel sehingga mendorong tercapainya nilai optimum bagi fluiditas membran sel yang berakibat pada penurunan viabilitas probiotik.

Maltodekstrin yang bersifat mudah larut diduga menyebabkan banyak bakteri terperangkap dalam larutan enkapsulan. Menurut Lin-Lin dan Hwang (1995), efisiensi yang optimal dapat dihasilkan dari matriks protein dan karbohidrat sebagai dinding mikrokapsul. Maltodekstrin merupakan turunan dari oligosakarida yang merupakan bahan energi untuk pertumbuhan bakteri yang baik (prebiotik) karena komponen dari maltodekstrin yang tergolong karbohidrat kompleks (Sumanti *et al.*, 2016). Dinding mikrokapsul yang terdiri dari dua bahan enkapsulan mampu memberikan perlindungan yang baik terhadap mikrokapsul. Sejalan dengan pernyataan Permatasari *et al.* (2002) bahwa penggunaan dua bahan

enkapsulan menghasilkan efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan satu enkapsulan, sebab kemampuan enkapsulan untuk berinteraksi membentuk granula yang dapat menyalut komponen yang dienkapsulasi lebih baik.

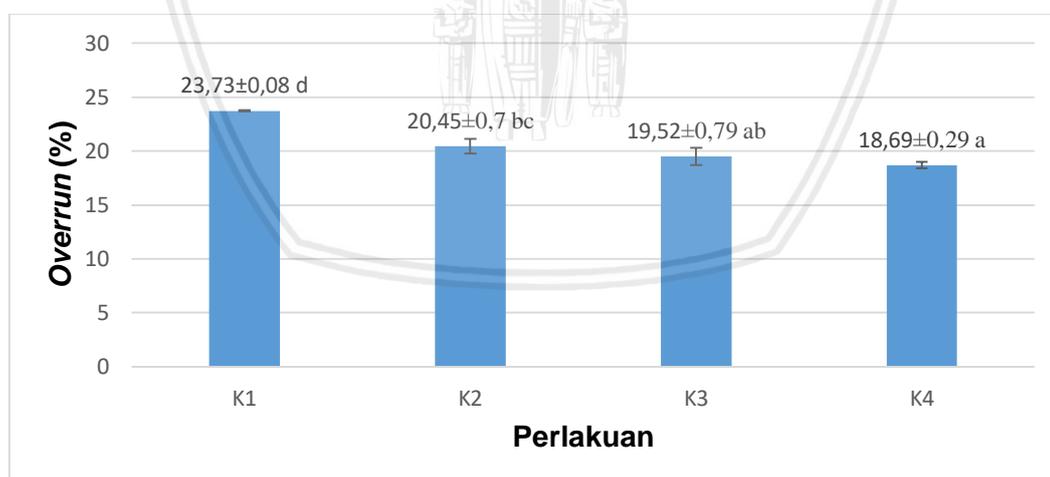
4.2.2. Analisis Kualitas Es Krim Cokelat

4.2.2.1. Karakteristik Fisik Es Krim Cokelat

Es krim cokelat yang diberikan 4 perlakuan dilakukan pengujian fisik untuk menentukan perlakuan terbaik dari segi fisik es krim cokelat meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh. Pengujian fisik untuk memperoleh komposisi terbaik dari beberapa formulasi es krim cokelat untuk ditambahkan mikrokapsul pada tahap penelitian utama.

1. *Overrun*

Pada penelitian ini, nilai *overrun* tertinggi didapat pada es krim cokelat K1 yaitu dengan nilai 23,73% dan terendah pada K4 dengan nilai 18,69%. Nilai *overrun* es krim yang dihasilkan dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Nilai *Overrun* Es Krim Cokelat Probiotik

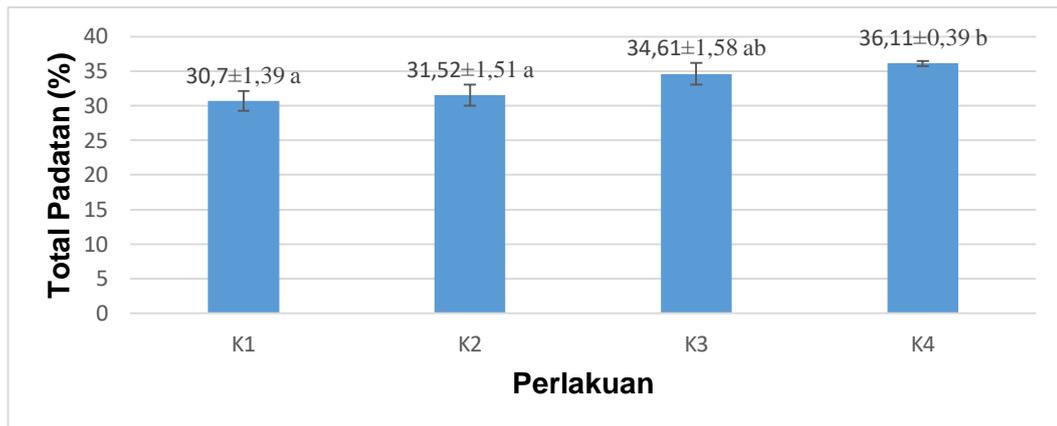
Kecepatan pengembangan (*overrun*) didefinisikan sebagai kemampuan adonan mencapai tingkat pengembangan yang tinggi. *Overrun* memiliki peranan yang penting dalam industri es krim. Pada umumnya, es krim dijual berdasarkan satuan volume sehingga semakin tinggi *overrun* akan memberikan keuntungan

yang lebih besar bagi produsen. *Overrun* terjadi melalui proses terperangkapnya udara pada adonan es krim. Adanya pemutaran pada adonan es krim dengan baling-baling menyebabkan udara dapat masuk pada adonan dan pendinginan menyebabkan pembekuan adonan sehingga udara yang terperangkap tidak dapat lepas. Jumlah total padatan yang tinggi mengandung banyak rantai pendek sehingga udara yang terperangkap dapat lebih banyak (Marshall dan Arbuckle, 2000).

Menurut Arbuckle (1986), *overrun* terjadi melalui proses terperangkapnya udara pada rantai pendek protein, lemak, dan laktosa. Rendahnya nilai *overrun* es krim yang dihasilkan diduga karena mengandung cokelat yang agak banyak dan penambahan mikrokapsul. Nilai *overrun* yang baik untuk produk es krim berkisar antara 28% - 30% (Marshall dan Arbuckle, 2000). Menurut Arbuckle (1986), pengembangan adonan es krim dapat ditingkatkan dengan penggunaan suhu pengolahan yang tinggi dan proses penuaan (aging). Proses penuaan dapat menyebabkan terbukanya rantai pendek dalam adonan es krim sehingga membentuk matriks gel yang kompak yang mengakibatkan terjadinya peningkatan nilai *overrun*. Analisis sidik ragam nilai *overrun* dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

2. Total Padatan

Pada penelitian ini, es krim cokelat K4 memiliki total padatan yang lebih tinggi dibanding semua perlakuan dengan nilai 36,11%. Hal ini disebabkan mikrokapsul yang ditambahkan pada perlakuan K4 lebih banyak. Total padatan es krim cokelat dapat dilihat pada **Gambar 9**.



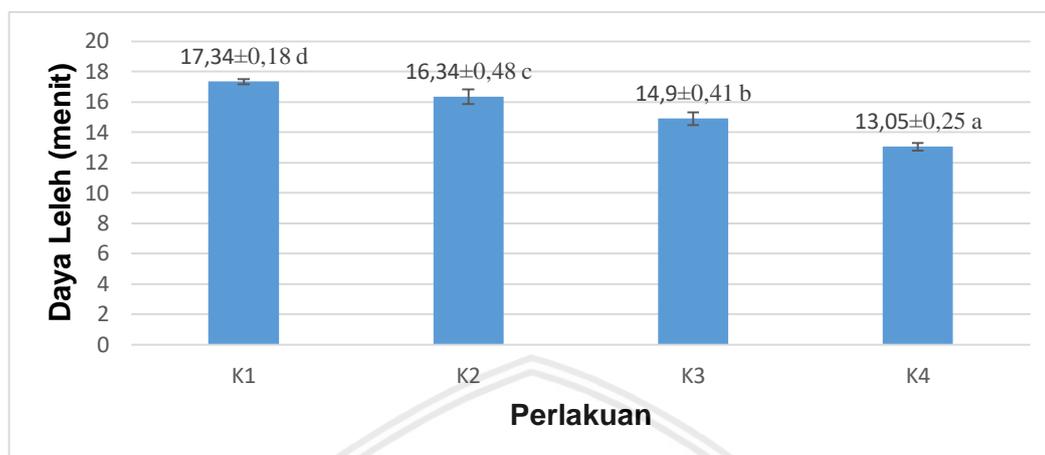
Gambar 9. Total Padatan Es Krim Cokelat Probiotik

Total padatan dalam es krim memegang peranan penting dalam pembentukan tekstur es krim dan memperlambat pelelehan. Menurut Marshall dan Arbuckle (2000), total padatan yang terlalu rendah mengakibatkan tekstur es krim menjadi kasar dan jika total padatan terlalu tinggi, es krim menjadi lembek dan lengket. Total padatan menggantikan jumlah air yang ada dalam adonan. Semakin tinggi total padatan maka semakin kecil jumlah air yang ditambahkan sehingga dapat mengurangi kristal es yang terbentuk. Menurut SNI 01-3713-1995, total padatan minimum pada es krim adalah 3.4%. Total padatan pada es krim sebaiknya tidak lebih dari 40,42% (Marshall dan Arbuckle, 2000). Dengan demikian total padatan es krim yang dihasilkan sudah memenuhi SNI. Analisis sidik ragam total padatan dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

3. Daya Leleh

Pada penelitian ini, es krim coklat dengan perlakuan K4 memiliki daya leleh paling baik dengan nilai 13,05 menit. Hal ini disebabkan karena penambahan mikrokapsul yang lebih banyak menyebabkan total padatan menjadi lebih tinggi. Sedangkan perlakuan K1 tidak memenuhi syarat dikarenakan terlalu banyak kadar air, sehingga pembentukan kristal es lebih banyak dan daya lelehnya menjadi lebih

lambat. Semakin tinggi total padatan di dalam es krim maka daya lelehnya akan semakin tinggi. Daya leleh es krim yang dihasilkan dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Daya Leleh Es Krim Cokelat Probiotik

Menurut Tala (2009) serat pangan memiliki daya serap air yang tinggi, karena ukuran polimernya besar, strukturnya kompleks dan banyak mengandung gugus hidroksil sehingga mampu menyerap air dalam jumlah yang besar. Semakin tinggi kadar serat yang dihasilkan semakin banyak juga air yang terserap menyebabkan adonan es krim menjadi kental sehingga kemampuan membentuk rongga-rongga udara yang dapat memerangkap udara menjadi rendah. Hal ini menyebabkan overrun rendah, karena adonan mengalami kesulitan untuk mengembang dan udara sulit menembus masuk permukaan adonan. Pada penelitian ini mikrokapsul yang ditambahkan ke dalam es krim tidak ikut meleleh ke dalam bahan dikarenakan kekuatan ikatan gel iota dan maltodekstrin. Ukuran partikel mikrokapsul yang dihasilkan berkisar $22,69 \pm 1,54 \mu\text{m}$, sehingga tidak terasa ketika dikonsumsi. Diameter mikrokapsul lebih dari $100 \mu\text{m}$ menyebabkan produk terasa seperti berpasir di lidah saat dimakan. Diameter mikrokapsul yang lebih kecil dari $100 \mu\text{m}$ lebih disukai saat diaplikasikan ke makanan (Annan *et al.*, 2008).

Daya leleh adalah waktu yang dibutuhkan es krim sampai meleleh sempurna pada suhu ruang. Menurut Nelson dan Trout (1951), daya leleh es krim

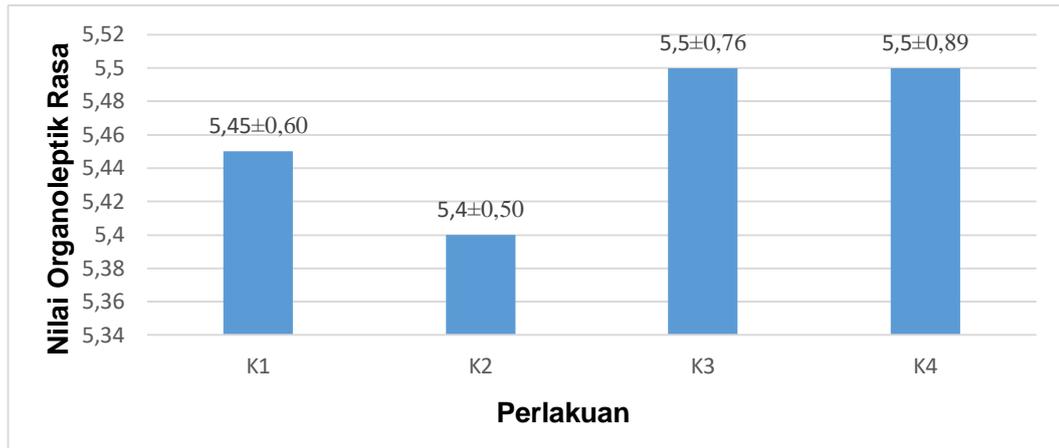
berkaitan erat dengan karakteristik bodi dan tekstur es krim. karakteristik dan tekstur es krim ditentukan oleh padatan yang terkandung dalam adonan. Padatan tersebut dapat berasal dari gula, padatan susu tanpa lemak, protein, dan hidrokoloid. Es krim yang bermutu baik harus mudah mencair apabila dibiarkan pada kondisi suhu ruang selama 10-15 menit dan proses pencairan komponen harus berlangsung secara merata. Pencairan yang tidak merata terlihat dari kekentalan, warna, atau tekstur lelehan yang tidak seragam (Bodyfelt et al., 1988). Susanti (2005) menyatakan daya leleh es krim yogurt kedelai berkisar antara 12.07 menit sampai 16.48 menit. Analisis sidik ragam daya leleh dapat dilihat pada **Lampiran 13.**

4.2.3. Analisis Organoleptik Es Krim Cokelat Probiotik

Pengujian organoleptik merupakan pengujian produk yang didasarkan pada proses pengindraan. Penilaian organoleptik es krim coklat probiotik menggunakan uji kesukaan dengan melibatkan 20 panelis (penilai mutu). Untuk analisis data, uji yang digunakan adalah uji Kruskal Wallis. Parameter yang digunakan yaitu kenampakan warna, aroma, tekstur, dan rasa.

4.2.2.1 Rasa

Rasa adalah sensasi yang diterima oleh indera perasa (lidah) saat mengkonsumsi makanan. Rasa merupakan tanggapan atas adanya rangsangan kimiawi yang sampai di indera pengecap lidah, khususnya jenis rasa dasar yaitu manis, asin, asam, dan pahit (Meilgaard *et al.*, 2000). Nilai rata-rata panelis terhadap parameter rasa dari es krim coklat berprobiotik dapat dilihat pada **Gambar 11.**



Gambar 11. Pengaruh Penambahan Mikro kapsul *B. bifidum* terhadap Rasa Es Krim Cokelat

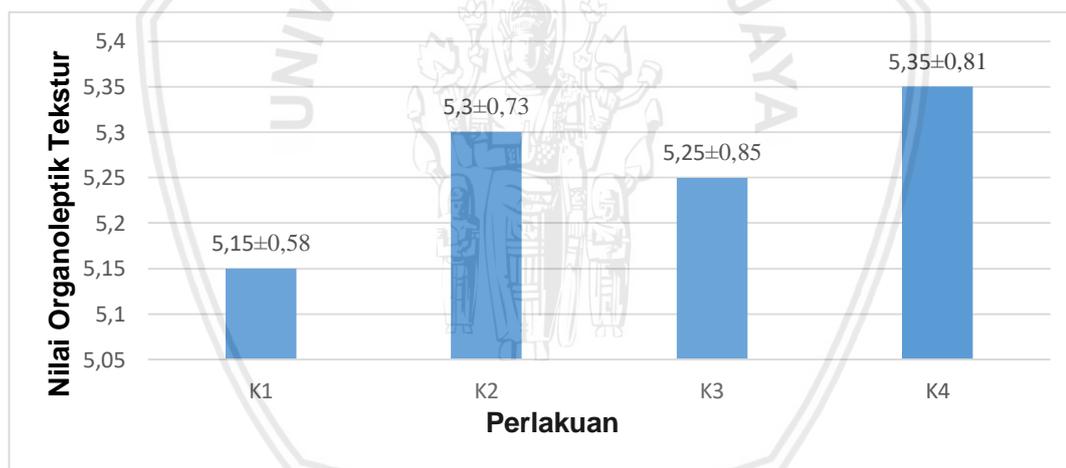
Berdasarkan uji Kruskal Wallis, didapat bahwa penambahan mikro kapsul ke dalam es krim cokelat dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh tidak berbeda nyata (Asymp. Sig. > 0,05) terhadap rasa es krim cokelat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter rasa es krim cokelat berprobiotik yaitu 5,4 - 5,50 dari rentang 1 - 7 yang berarti panelis agak suka hingga suka dengan rasa es krim cokelat dari semua perlakuan. Rerata tertinggi kesukaan panelis yaitu pada es krim cokelat K3 dan K4 yaitu sebesar 5,50, sedangkan rerata terendah pada es krim cokelat K2 yakni sebesar 5,4 (agak disukai). Hal ini memperlihatkan bahwa atribut rasa dari es krim cokelat probiotik secara umum dapat diterima oleh panelis. Analisis uji Kruskal Wallis parameter rasa dapat dilihat pada **Lampiran 14**. Diduga menggunakan komposisi es krim cokelat yang sama dan umur panelis yang seumuran menghasilkan respon panelis yang sama terhadap rasa produk. Rentang perbedaan usia antar panelis yang tidak berbeda jauh menyebabkan sensitivitasnya terhadap rasa cenderung sama (Rosalia dan Fibrianto, 2016).

Mikro kapsul *B. bifidum* mempunyai rasa asin yang tidak disukai konsumen, sehingga aplikasi ke dalam es krim cokelat merupakan solusi tepat agar mikro kapsul tetap dikonsumsi dengan rasa yang enak. Rasa suatu bahan pangan dipengaruhi oleh komponen kimia penyusun bahan pangan tersebut, tekstur, suhu,

konsentrasi, dan interaksi antara komponen rasa (Harismah *et al.*, 2015). Sedangkan pada sampel K3 dan K4 tingkat kesukaan rasanya tertinggi, karena tidak terdeteksinya rasa asin mikrokapsul.

4.2.2.2 Tekstur

Tekstur merupakan ciri suatu bahan sebagai akibat perpaduan dari beberapa sifat fisik yang meliputi ukuran, bentuk, jumlah dan unsur-unsur pembentukan bahan yang dapat dirasakan oleh indera peraba dan perasa, termasuk indera mulut dan penglihatan. Produk pangan juga dibuat untuk mendapatkan karakteristik tekstural produk pangan olahan seperti kerenyahan, kenampakan, dan sebagainya. Nilai rata-rata kesukaan panelis terhadap parameter tekstur dari es krim coklat berprobiotik dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *B. bifidum* terhadap Tekstur Es Krim Cokelat

Berdasarkan uji Kruskal Wallis, didapat bahwa penambahan mikrokapsul ke dalam es krim coklat dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh tidak berbeda nyata (Asymp. Sig. > 0,05) terhadap tekstur es krim coklat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter tekstur es krim coklat berprobiotik yaitu 5,15 - 5,35 dari rentang 1 - 7 yang berarti panelis agak suka dengan tekstur es krim coklat mikrokapsul dari semua perlakuan. Rerata tertinggi kesukaan panelis yaitu pada es krim coklat K4 yaitu sebesar 5,35 (agak menyukai), sedangkan

rerata terendah pada es krim coklat K1 yakni sebesar 5,15 yang berarti agak menyukai. Namun secara umum seluruh perlakuan memiliki tingkat kesukaan tekstur yang tidak berbeda nyata oleh semua panelis. Analisis uji Kruskal Wallis parameter tekstur dapat dilihat pada **Lampiran 15**.

Respon panelis yang hampir sama terhadap tekstur es krim coklat probiotik diduga karena komposisi dasar es krim yang digunakan sama pada semua perlakuan. Kesamaan respon ini diduga karena tidak adanya pengaruh ukuran mikrokapsul yang ditambahkan karena ukuran mikrokapsul yang ditambahkan sebesar 23,43 μm (di bawah 100 μm) sehingga terhindar dari sensasi berpasir atau tidak nyaman di mulut. Selain itu, penambahan iota dengan konsentrasi sama (4%) pada formulasi dasar (penelitian awal) menghasilkan tekstur yang hampir sama pula pada produk akhir. Semakin tinggi konsentrasi karaginan yang diberikan ke produk semakin tinggi pula nilai teksturnya, dan semakin rendahnya nilai tekstur berarti semakin rendah pula tingkat kekerasan es krim (Wijana *et al.*, 2014). Estiasih (2006) menjelaskan bahwa sifat penting dari karaginan adalah sifat fungsionalnya yang dapat mengontrol kadar air, menstabilkan dan membentuk tekstur sesuai dengan yang diinginkan. Didukung oleh pernyataan Putri (2013), karaginan mengikat air bebas untuk pembentukan gel.

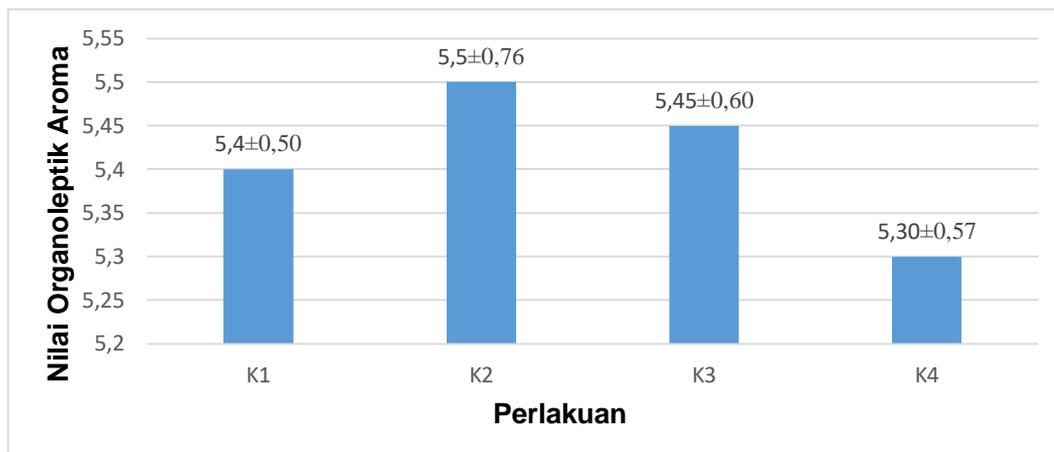
Maltodekstrin ikut berperan dalam menentukan tekstur akhir dari es krim coklat. Penambahan mikrokapsul ke dalam es krim coklat yang semakin meningkat konsentrasinya menyebabkan kadar maltodekstrin pada mikrokapsul juga ikut meningkat, sehingga pada penambahan mikrokapsul 10% (K4) ke dalam es krim coklat menyebabkan teksturnya yang lebih keras dan paling kurang disukai panelis. Mikrokapsul *B. bifidum* bertekstur khas es krim dan disukai konsumen. Hal ini diduga karena kedua bahan penyalut yang bekerja sinergis membentuk lapisan yang kokoh dan kuat menyelimuti *B. bifidum* dan membentuk

total padatan lebih banyak. Aplikasi mikrokapsul ke dalam es krim coklat dinilai tepat karena tekstur mikrokapsul dapat tersamarkan oleh tekstur coklat sehingga konsumen tidak bisa merasakan tekstur mikrokapsul. Maltodekstrin memiliki sifat fungsional membentuk gel dalam air panas (Yusraini *et al.*, 2007). Sifat dari maltodekstrin yaitu kemampuan membentuk gel dan kekuatan menahan air pada produk (Ramadhani, 2016). Deliana *et al.* (2014) menyatakan bahwa coklat memiliki dua sifat utama yang perlu diperhatikan yaitu flavour dan tekstur.

Es krim coklat yang dihasilkan dalam penelitian memiliki cita rasa yang khas, tekstur lembut pada suhu kamar, cepat meleleh di mulut, menjadi cair, dan terasa lembut di lidah. Faktor yang mempengaruhi tekstur bahan pangan antara lain perbandingan kandungan protein-lemak, jenis protein, suhu pengolahan, dan kadar air, selain itu bahan-bahan *aditif* juga mempengaruhi tekstur suatu produk (Nugrahani, 2014). Tekstur merupakan segi penting dari mutu makanan, kadang-kadang lebih penting daripada bau, rasa dan warna, selain itu pengukuran tekstur telah menjadi salah satu faktor terpenting dalam industri pangan, khususnya sebagai indikator dari aspek non-visual (Putri, 2012). Apabila produk pangan masuk ke dalam mulut, sejumlah rangsangan atau sensasi distimulasikan dan memberikan berbagai informasi mengenai tekstur dan rasa dalam mulut (Rahayu dan Nurosiyah, 2004).

4.2.2.3 Aroma

Aroma merupakan salah satu variabel kunci, karena pada umumnya cita rasa konsumen terhadap produk makanan sangat ditentukan oleh aroma. Aroma berkaitan erat dengan indra penciuman, aroma yang dikatakan enak merupakan perpaduan dari komponen-komponen bahan yang sangat tepat (Ramadhani *et al.*, 2012). Nilai rata-rata panelis terhadap parameter aroma dari es krim coklat berprobiotik dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *B. bifidum* terhadap Aroma Es Krim Cokelat

Berdasarkan uji Kruskal Wallis, didapat bahwa penambahan mikrokapsul ke dalam es krim cokelat dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh tidak berbeda nyata (Asymp. Sig. > 0,05) terhadap aroma es krim cokelat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter aroma es krim cokelat probiotik yaitu 5,30 hingga 5,5 (agak suka) dari rentang 1 - 7. Rerata tertinggi kesukaan panelis yaitu pada es krim cokelat K2 yaitu sebesar 5,5 (agak menyukai), sedangkan rerata terendah pada es krim cokelat K4 yakni sebesar 5,30 yang berarti agak disukai panelis. Secara umum kelima perlakuan memiliki tingkat kesukaan aroma yang sama yaitu agak disukai panelis. Analisis uji Kruskal Wallis parameter aroma dapat dilihat pada **Lampiran 16**.

Aroma es krim cokelat probiotik yang khas dan hampir sama dari semua perlakuan diduga disebabkan karena pengaruh bahan utama pembuatan es krim yakni cokelat batang komersial yang lebih banyak mengandung kakao dibanding bahan tambahan lain sehingga aroma khas kakao mendominasi pada es krim cokelat probiotik. Pembentukan aroma pada cokelat sangat dipengaruhi diantaranya oleh karbohidrat dan protein yang terdegradasi menjadi asam-asam amino, gula sebagai asupan karbohidrat akan mempengaruhi pembentukan

senyawa pyrazines serta komponen-komponen volatil yang dapat menimbulkan flavour pada produk olahan coklat (Fakhmi *et al.*, 2015).

Penambahan mikrokapsul hingga 10% memiliki rerata terendah yakni 5,30 (agak suka), diduga karena penambahan mikrokapsul 10% dapat merubah karakteristik aroma es krim coklat yang mengakibatkan aroma khas produk sedikit berkurang. Mikrokapsul *B. bifidum* sendiri memiliki aroma yang khas asam seperti cuka dan gurih, hal ini diduga disebabkan karena bahan penyalut yang tercampur dengan KCL (garam) dan bakteri yang menghasilkan asam laktat. Aplikasi mikrokapsul ke dalam es krim coklat dinilai tepat karena aroma asam mikrokapsul dapat tersamarkan oleh aroma kakao dari coklat. Selaras dengan penelitian sejenis, rerata panelis merespon penilaian terhadap produk es krim coklat dengan respon agak suka terhadap aroma es krim coklat yang diberi tambahan bahan lain. Sesuai dengan pernyataan Riyansari (2009) yang persyaratannya bahwa aroma harus normal atau dapat diterima, hal ini sesuai dengan standar nasional. Di industri pangan, pengujian aroma atau bau dianggap penting karena cepat dapat memberikan hasil penilaian terhadap produk terkait diterima atau tidaknya suatu produk (Harismah *et al.*, 2015).

4.2.2.4 Warna

Warna merupakan visualisasi suatu produk yang langsung terlihat lebih dahulu dibandingkan dengan variabel lainnya. Menurut Winarno (2002), secara visual faktor warna akan tampil lebih dahulu dan sering kali menentukan nilai suatu produk. Di bidang pemasaran coklat, sebelum faktor-faktor lain dipertimbangkan secara visual, warna menjadi penentu daya tarik atau bahkan penolakan (Misnawi dan Wahyudi, 2008). Nilai rata-rata panelis terhadap parameter aroma dari es krim coklat berprobiotik dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Pengaruh Penambahan Mikro kapsul *B. bifidum* terhadap Warna Es Krim Cokelat

Berdasarkan uji Kruskal Wallis, didapat bahwa penambahan mikro kapsul ke dalam es krim cokelat dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh tidak berbeda nyata (Asymp. Sig. > 0,05) terhadap warna es krim cokelat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter warna es krim cokelat berprobiotik yaitu 5,55 - 5,8 (suka) dari rentang 1 - 7. Rerata tertinggi kesukaan konsumen yaitu pada es krim cokelat K2 yakni sebesar 5,8 (agak suka hingga suka), sedangkan rerata terendah pada es krim cokelat K1 yakni sebesar 5,55 yang berarti agak disukai panelis. Analisis uji Kruskal Wallis parameter warna dapat dilihat pada **Lampiran 17**.

Warna yang dihasilkan dari seluruh perlakuan es krim cokelat cenderung sama yaitu cokelat gelap dan mengkilap sesuai karakter es krim cokelat pada umumnya. Hal ini dilihat dari respon panelis yang menghasilkan rata-rata parameter warna yang tidak berbeda nyata antar sampel yang menyukai warna es krim cokelat. Data penelitian terhadap organoleptik warna es krim cokelat dinilai dapat diterima panelis sesuai dengan pernyataan Riyansari (2009) yang menyatakan bahwa warna persyaratannya harus normal atau dapat diterima agar sesuai standar nasional.

Penambahan mikrokapsul ke dalam es krim coklat yang tidak memberikan pengaruh nyata pada penampilan warna es krim coklat diduga karena tidak adanya pengaruh iota karaginan dan maltodekstrin pada mikrokapsul meskipun keduanya berwarna putih. Warna merupakan parameter utama dalam menentukan tingkat konsumen, karena suatu produk dikatakan menarik apabila memiliki warna yang disukai oleh konsumen. Peranan itu sesuai dengan pernyataan Moulana (2012), dimana warna mempunyai arti dan peranan yang sangat penting terhadap komoditas pangan terutama dalam daya tarik, tanda pengenal dan atribut mutu.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap viabilitas *B. bifidum* namun tidak berbeda nyata terhadap karakteristik organoleptik rasa, tekstur, warna, dan aroma dari es krim coklat. Viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan K4 (penambahan mikrokapsul 10%) yakni 6,60 log cfu/mL, sedangkan viabilitas terendah pada perlakuan K1 (penambahan mikrokapsul 2%) dengan viabilitas sebesar 2,44 log cfu/mL. Penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi 2% dan 6% belum cukup untuk menghasilkan es krim coklat probiotik yang memiliki viabilitas *B. bifidum* sesuai standar FAO yakni 6-7 log cfu/mL. Nilai *overrun* terbaik didapat pada es krim coklat K1 yaitu dengan nilai 23,73%, total padatan tertinggi pada perlakuan K4 dengan nilai 36,11%, dan daya leleh paling baik pada perlakuan K4 dengan nilai 13,05 menit. Tingkat kesukaan rata-rata paling tinggi terhadap es krim coklat probiotik perlakuan K2. Panelis agak menyukai hingga menyukai es krim coklat berprobiotik

5.2 Saran

Es krim coklat probiotik yang dihasilkan memiliki nilai *overrun* yang masih mungkin ditingkatkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang formulasi es krim probiotik untuk mendapatkan karakteristik yang lebih baik terutama nilai *overrun* yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, Eddy dan Evi Liviawaty. 2005. Pakan Ikan. Yogyakarta: Kanisius.
- Anurogo, D. 2014. Probiotik: Problematika dan Progresivitasnya. *Medicinus*, **27**(3): 46–57.
- Arbuckle, W.S. 1986. Ice Cream. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Ariyani, P. W. 2013. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* Terenkapsulasi dan Mutu Sensori Yogurt Tepung Pisang Sinbiotik Selama Penyimpanan Dingin. Skripsi. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia (SNI) 01-2593. 1992. Dekstrin. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia (SNI) 01-3713. 1995. Es Krim. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Baffoni, L., Stenico, V., Strahsburger, E., Gaggia, F., Di Gioia, D., Modesto, M., dan Biavati, B. 2013. Identification of Species Belonging to The *Bifidobacterium* Genus by PCR-RFLP Analysis of A HSP60 Gene Fragment. *BMC Microbiology*, **13**(1): 149.
- Burgain, J., dan Scher, J. 2011. Encapsulation of Probiotic Living Cells: From Laboratory Scale to Industrial Applications. *Journal of Food Engineering*, **104**(4): 467–483.
- Campbell, J.R. dan R.T. Marshall. 1975. The Science of Providing Milk for Men. McGraw Hill Book Co. Inc., New York.
- Chandramouli, V., Kailasapathy, K., Peiris, P., dan Jones, M. 2003. An Improved Method of Microencapsulation and Its Evaluation to Protect *Lactobacillus spp.* in Simulated Gastric Condition. *Journal of Microbiol Methods*, **56**(2):27– 35.
- Chavarri, M., Maranon, I., Ares, R., dan Villaran, M. 2010. Microencapsulation of A Probiotic and Prebiotic In Alginate-Chitosan Capsules Improves Survival In Simulated Gastro-Intestinal Conditions. *International Journal of Food Microbiology*, **142**(2):185– 189.
- Cuenca-garc, M., Ruiz, J. R., dan Ortega, F. B. 2014. Association Between Chocolate Consumption and Fatness in European Adolescents. *Nutrition Journal*, **30**(7): 236–239.
- Desrosier, N.W. dan D.K. Tressler. 1977. Fundamentals of Food Freezing. The AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut.
- Diharmi., Andarini., Dedi, F., dan Nuri, A. 2011. Karakteristik Karagenan Hasil Isolasi *Eucheuma spinosum* (Alga Merah) dari Perairan Semenep Madura. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, **16**(1): 117–124.
- Eckles, E.H., W.B. Combs., dan H. Macy. 1984. Milk and Milk Products. McGraw Hill Book Co. Inc., New York.

- Effendi S. dan Hardjosuwito B., 1988. Penetapan derajat fermentasi biji kakao berdasarkan indeksw fermentasi dan uji organoleptik. *Menara Perkebunan*, **56**(3), 76-79.
- El-kalyoubi, M., Khallaf, M. F., Abdelrashid, A., dan Mostafa, E. M. 2011. Quality Characteristics of Chocolate – Containing Some Fat Replacer. *Annals of Agricultural Sciences*, **56**(2): 89–96.
- Estiasih, T., Ahmadi. 2012. Hubungan Antara Sifat-sifat Emulsifikasi dengan Stabilitas Oksidasi Mikrokapsul yang Dihasilkan dengan Metode Pengeringan Semprot. *Jurnal Teknologi Pertanian*, (5): 35-47.
- Fasikhatun, T. 2010. Pengaruh Konsentrasi Maltodekstrin dan Gum Arab terhadap Karakteristik Mikrokapsulat Minyak Sawit Merah dengan Metode Spray Drying. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Fathmawati., dan M. Renardo P. A. 2014. Studi Kinetika Pembentukan Karaginan dari Rumput Laut. *Teknik Pomits*, **3**(1): 1–6.
- Fernandes, V. A., Müller, A. J., dan Sandoval, A. J. 2013. Thermal , Structural and Rheological Characteristics of Dark Chocolate with Different Compositions. *Journal of Food Engineering*, **116**(1): 97–108.
- Firdaus, M., Setijawati, D., dan Kartikaningsih, H. 2014. The Effect of *Lactobacillus acidophilus* Microcapsule Which Encapsulated by Kappa Caragenan Toward In Vivo Functional Test. *Research Journal of Life Science*, **1**(1): 27–36.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2007. FAO Technical Meeting on Prebiotics. Roma: Food Quality and Standards Service (AGNS) Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Glicksman. 1983. Food Hydrcolloid Vol. 11. Florida: Crc Press Inc Boca Raton.
- Hanafiah, K. A. 2009. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Harmayani, E., Ngatirah., Rahayu, E. S., dan Utami, T. 2001. Ketahanan dan Viabilitas Probiotik Bakteri Asam Laktat Selama Proses Pembuatan Kultur Kering dengan Metode Freeze dan Spray Drying. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **12**(2): 126-132.
- Hudha, M. I., Sepdwiyanti, R., dan Sari, S. D. 2012. Ekstraksi Karaginan dari Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) dengan Variasi Suhu Pelarut dan Waktu Operasi. *Berkala Ilmiah Teknik Kimia*, **1**(4): 17–20.
- Husniati. 2009. Studi Karakterisasi Sifat Fungsi Maltodekstrin dari Pati Singkong. *Jurnal Riset Industri*, **3**(2): 133-138.
- Ibrahim, A., Aditya F., dan Fila D. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, **1**(2): 159-163.
- Istini, S., dan Suhaimi. 1998. Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut. Lembaga Oseanologi Nasional. Jakarta.
- Kamala, N. 2010. Mikrokapsulasi Vitamin A Palmitat dengan Menggunakan Gelatin-Akasia Secara Koaservasi Kompleks. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia: Depok.

- Kelishadi, RMD. 2005. Cacao to Cocoa to Chocolate : Healthy Food: ARYA Journal **1**(1): 28 – 34.78 - 481.
- Kemsawasd, V., Pittaya, C., dan Paweena, R. 2016. Survival of Immobilized Probiotics In Chocolate During Storage and With An In Vitro Gastrointestinal Model. *Food Bioscience*, **16**(2): 37–43.
- Konar, N., Said, O., Oba, S., dan Sagdic, O. 2016. Trends in Food Science and Technology Improving Functionality of Chocolate : A Review on Probiotic, Prebiotic, and or Synbiotic Characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, **49**: 35–44.
- Kondo. 1979. Microcapsule Processing And Technology. New York: Marcel Dekker.
- Kumar, M., Goyal, R., Khandal, H., Khilwani, B., Gupta, S., dan Lomash, H. 2010. Perception and Attitudes of Indian Consumers to Probiotic Foods. *Int. Journal of Probiotics and Prebiotics*, **5**(4): 217–220.
- Lalic'ic'-Petronijevic, J. 2015. Viability of Probiotic Strains *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* HN019 and Their Impact on Sensory and Rheological Properties of Milk and Dark Chocolates During Storage for 180 Days. *Journal of Functional Foods*, **15**(3): 541–550.
- Lee, J.W., Kim, S.Y., Kim, S.S., Lee, Y.M., Lee, K.H., Kim, S.J., 1999, Synthesis and Characteristics of Interpenetrating Polymer Network Hydrogel Composed of Chitosan and Poly (Acrylic Acid). *J. Appl. Polym. Sci*, **73**: 113-120.
- Maduningsih, G. L. 2008. Stabilitas Bakteri Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum* dalam Yogurt Susu Kambing di dalam Saluran. Skripsi. Program Study Teknologi Hasil Ternak. Institut Pertanian Bogor.
- Magfirah., Risco G. Budji, S., dan Sartini. 2001. Uji Viabilitas Isolat Probiotik Asal Saluran Pencernaan Itik Pedaging *Anas domesticus* yang Dienkapsulasi dengan Metode Spray Drying. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, **6**(2): 1-10.
- Mahmoudi, F., Miloud, H., Bettache, G., dan Mebrouk, K. 2013. Identification and Physiological Properties of *Bifidobacterium* Strains Isolated from Different Origin. *Journal of Food Science and Engineering*, **3**(4): 196–206.
- Manojlovic, V., V. A. Nedovic., K. Kasipathy., dan N. J. Zuidam. 2010. Encapsulation of Probiotics for Use In Food Products. *Springer Science*.
- Marshall, R.T. dan W.S. Arbuckle. 2000. Ice cream. 5th Edition. Aspen Publisher, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Masykuri, Y. B dan Ardila D. P. 2012. Resistensi pelelehan over-run dan tingkat kesukaan es krim vanilla terbuat dari bahan utama kombinasi krim susu dan santan kelapa. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* **1**(3).
- Moniha, V., Alagar, M., Selvasekarapandian, S., Sundaresan, B., dan Boopathi, G. 2017. Conductive Bio-Polymer Electrolyte Iota-Carrageenan with Ammonium Nitrate for Application in Electrochemical Devices. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **481**(11): 424–434.
- Moussa M.E., Salem, Fatma A. Fathi, dan R.A. Awad. 2005. Production of Probiotic Ice Cream. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **14**(55): 267–271.

- Nasyarudin, M. 2016. Pembuatan Mikrokapsul Phycocyanin Menggunakan Maltodekstrin sebagai Bahan Pelapis dengan Metode Spray Drying. In *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"* (hal.1–7). Yogyakarta: Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Nelson, J.A. dan G.M. Trout. 1951. *Judging Dairy Product*. The Olsen Publishing Company, Wisconsin.
- Nicolaas, J. Z., dan Eyal, S. 2010. Overview of Microencapsulates for Use in Food. *Springer Science and Business Media*.
- Novianto., Dinarianasari, Y., dan Prasetyaningrum, A. 2013. Pemanfaatan Membran Mikrofiltrasi untuk Pembuatan Refined Carrageenan dari Rumput Laut Jenis *Euchema cottonii*. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, **2**(3): 109–114.
- Pacifico, C. J. 2001. Sensitive Substance Encapsulation. United States Patent. Amerika.
- Padaga, Masdiana. 2005. *Membuat Es Krim yang Sehat*. Surabaya : Trubus Agrisarana.
- Pebrianata, E. 2005. Pengaruh Pencampuran Kappa dan Iota Karagenan terhadap Kekuatan Gel dan Viskositas Karagenan Campuran. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Institut Pertanian Bogor.
- Pereira, L., Amado, A. M., Critchley, A. T., Velde, F. Van De., dan Ribeiro-claro, P. J. A. 2009. Food Hydrocolloids Identification of Selected Seaweed Polysaccharides (Phycocolloids) by Vibrational Spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman). *Food Hydrocolloids*, **23**(7): 1903–1909.
- Permatasari, A. K., Nocianitri, K. A., dan Duniaji, A. S. 2002. Viabilitas *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dalam Berbagai Jenis Enkapsulan dan Suhu Penyajian. 1–13.
- Philip, R., Ohene, E., dan Dewettinck, K. 2015. Rheological Properties, Melting Behaviours and Physical Quality Characteristics of Sugar-Free Chocolates Processed Using Inulin/Polydextrose Bulking Mixtures Sweetened with Stevia.
- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., dan Van de Wiele, T. 2010. Bacteria and Chocolate: A Successful Combination for Probiotic Delivery. *International Journal of Food Microbiology*, **141**, 97–103.
- Potter, N.N. dan Hotchkiss. 1995. *Food Science*. The AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut.
- Purwaningsih, W., Prasetya, A., dan Hasokowati, W. 2010. Pengaruh Mikrokapsul dari Urea-Formaldehid : Pengaruh Waktu dan Perbandingan Reaktan pada Pembuatan Resin Terhadap Proses Mikroenkapsulasi. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses 2010*, **5**(2): 1–6.
- Radhiyatullah, A., Indriani, N., dan Hendra, M. G. 2015. Pengaruh Berat Pati dan Volume Plasticizer Gliserol terhadap Karakteristik Film Bioplastik Pati Kentang. *Jurnal Teknik Kimia USU*, **4**(3): 35–39.
- Rifani, A. N., Ma'ruf, W. F., dan Romadhon. 2016. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Karagenan Terhadap Karakteristik Empek-Empek Udang Windu

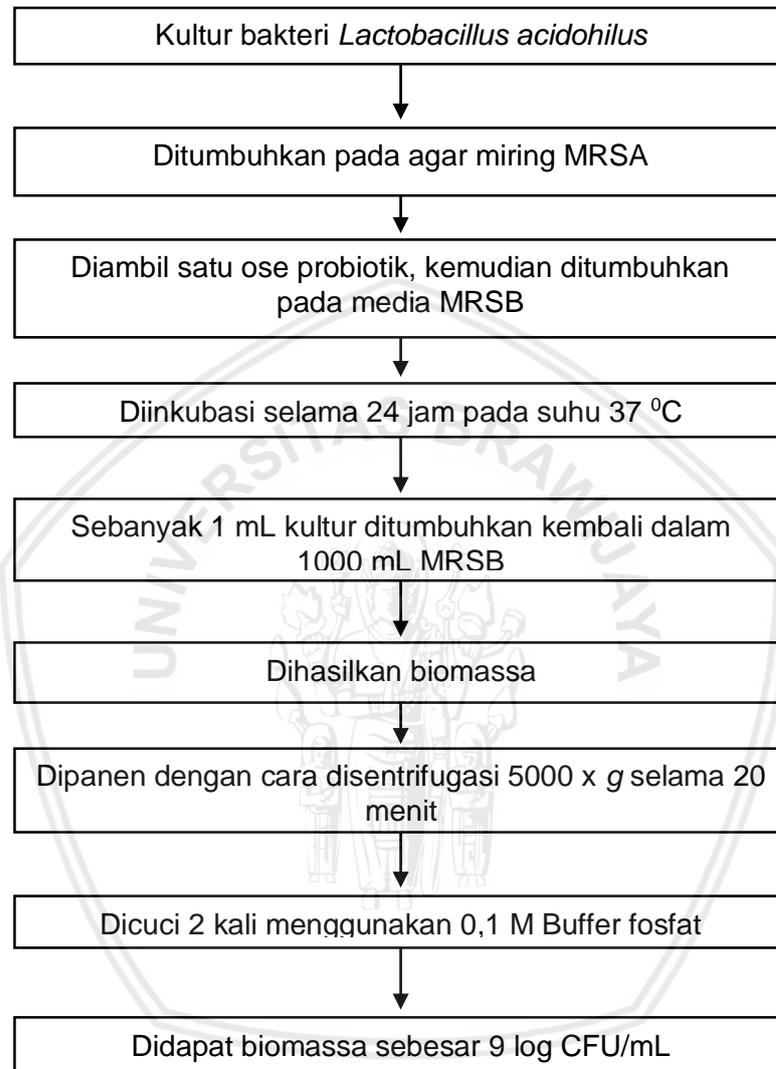


- (*Penaeus monodon*). *Jurnal Pengetahuan dan Teknologi Hasil Perikanan*, **5**(1): 79–87.
- Risch, S. J. 1995. Encapsulation: Overview of User and Techniques in Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients, G. A. Reineccius. American Chemical Society, Washington. D. C.
- Rizza, RA., Liang, V., Mc. Mohan, M., and Harrison, G. 2000. Encyclopedia of Foods: A Guide to Healthy Nutrition. Academic Press. London : 403 – 406.
- Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., dan Mattila-Sandholm, T. 2002. Gut Bacteria and Health Foods - The European Perspective. *International Journal of Food Microbiology*, **78**(1–2): 99–117.
- Setijawati, D., Wijana, S., Aulani'am., dan Santosa, I. 2012. Penggunaan Caragenan dengan Metode Proses Berbeda (SRC dan RC) sebagai Bahan Pengenkapsulat *Lactobacillus acidophilus* terhadap Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul Secara In Vitro. *Jurnal Teknologi Pangan*, **3**(1): 1-12.
- Setijawati, D., Wijana, S., dan Santosa, I. 2011. Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Penyalut Karagenan Semi Murni Jenis *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Teknologi Pangan*, **2**(1): 50-67.
- Setyanto. 2015. Memperkenalkan kembali metode eksperimen dalam kajian komunikasi. **2**(1) Juni: 37 – 48.
- Shortt, C. 1999. The Probiotic Century: Historical and Current Perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, **10**(12): 411–417.
- Shuler, K. 2002. Bioprocess Engineering Basic Concepts (2nd ed).
- Simadibrata, M., dan Daldiyono, 2006. Buku ajar ilmu penyakit dalam Edisi 4 Jilid 1. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Simorangkir, M., Barus, T., Surbakti, R., dan Simanjuntak, P. 2016. Isolation and Toxicity of Steroidal Alkaloid Glycoside from Fruits of Ranti Hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume). *Asian Journal of Chemistry*, **28**(1): 203–206.
- Silva, M, A., Fabricio, L., Tulini, A., Júlia, F,U., Marinho, A., Marcella, C., dan Valdecir, L. 2016. Semisweet Chocolate as A Vehicle for The Probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BLC1: Evaluation of Chocolate Stability and Probiotic Survival Under In Vitro Simulated Gastrointestinal Conditions. *LWT - Food Science and Technology*, **75**(34): 640-647.
- Smrčková, P., Horský, J., Šárka, E., Koláček, J., Netopilík, M., Walterová, Z., dan Hrušková, K. 2013. Hydrolysis of Wheat B-Starch and Characterisation of Acetylated Maltodextrin. *Carbohydrate Polymers*, **98**(1): 43–49.
- Steinhaus, D. A., Mostofsky, E., Levitan, E. B., dan Dorans, K. S. 2016. Chocolate Intake and Incidence of Heart Failure : Findings from the Cohort of Swedish Men. *American Heart Journal*, **183**: 18–23.
- Succi, M., Tremonte, P., Pannella, G., Tipaldi, L., Cozzolino, A., Coppola, R., dan Sorrentino, E. 2017. Survival of Commercial Probiotic Strains In Dark Chocolate with High Cocoa and Phenols Content During The Storage and In A Static In Vitro Digestion Model. *Journal of Functional Foods*, **35**: 60–67.

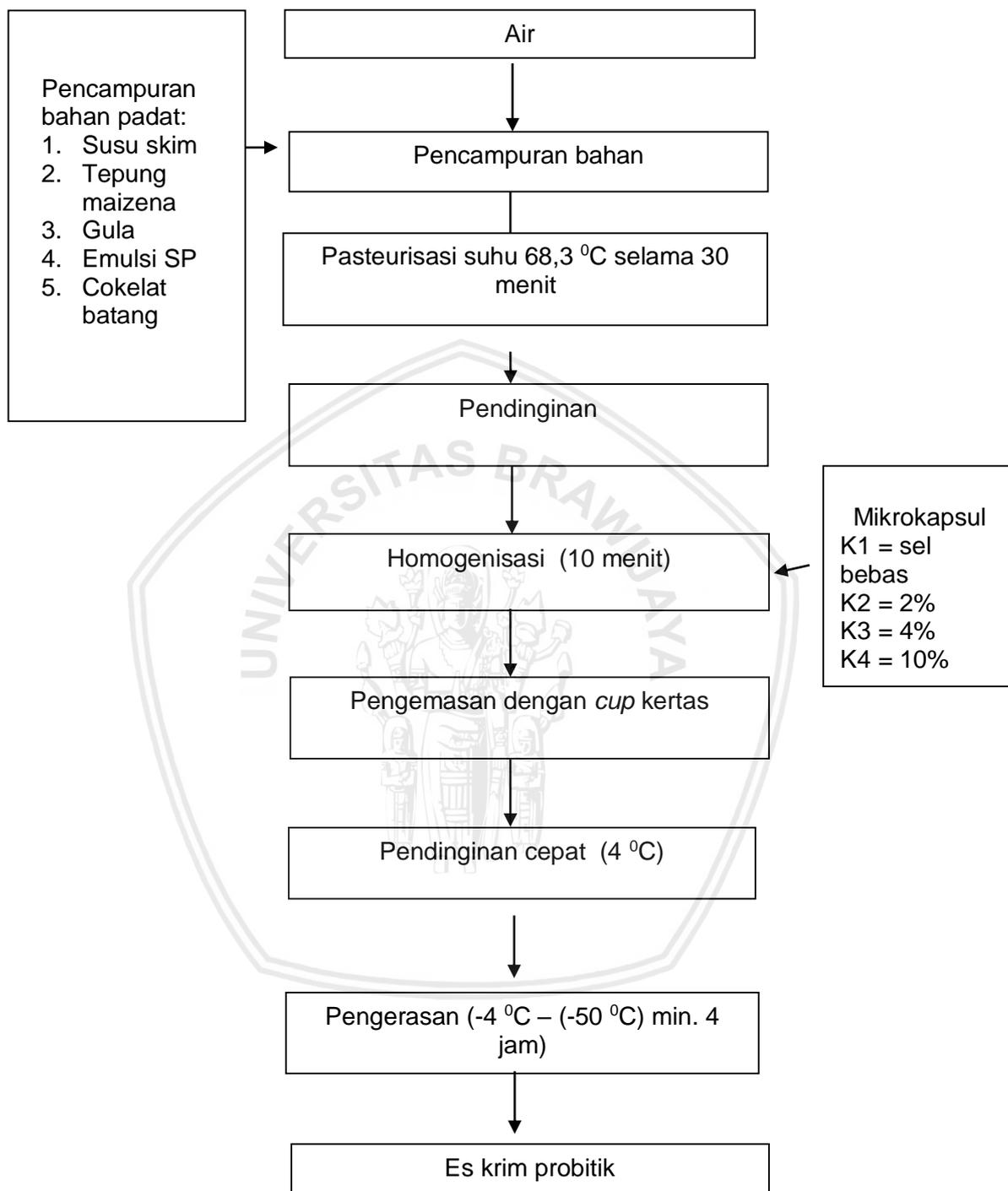
- Sudarmadji, S., Harono, B. dan Suhardi. 2007. Analisis Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Sumanti, D. M., Lanti, I., Hanidah, I., dan Sukarminah, E., 2016. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Maltodekstrin sebagai Penyalut terhadap Viabilitas dan Karakteristik Mikroenkapsulasi Suspensi Bakteri *Lactobacillus plantarum* Menggunakan Metode Freeze Drying. *Jurnal Penelitian Pangan*, **1**(1): 7–12.
- Surono, I. S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Suryono., Sudono, A., Sudarwanto, M., dan Apriyantono, A. 2005. Studi Pengaruh Penggunaan *Bifidobacteria* terhadap Flavor Yoghurt. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **16**(1).
- Susilorini, Tri Eko. 2006. Produk Olahan Susu. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Swarbrick, J and Boylan, J.C., 1994. Microsphere Technology and Applications Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. New York: Marcel Dekker, (10): 1-15.
- Tala, Z. 2009. Manfaat Serat Bagi Kesehatan. Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Tanaka, K., Tsukahara, T., Yanagi, S. N. T., dan Furukawa, H. T. O. 2016. *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 Simultaneously Enhances Systemic and Mucosal Humoral Immunity in Low Birth Weight Infants: A Non-Randomized Study. *Nutrients*, **9**(5): 4–7.
- Triana, E. V. I., dan Yulinery, T. 2015. Uji Stabilitas Probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 Terenkapsulasi dalam Sediaan Oralit dengan Analisis Viabilitas. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, **1**(2): 278–282.
- Wahyudi, T., Panggabean, T.R., dan Pujiyanto. 2008. Panduan Lengkap Kakao 13. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wu W., Roe, W. S., Gimino, V. G., Seriburi, V., Martin, D. E., dan Knapp, S. E. 2000. Low Melt Encapsulation with High Laurate Canola Oil. US. Patent 6 153 326.
- Yang, C., Fujita, Y., Ren, Q., Ma, M., Dong, C., dan Hashimoto, K. 2017. *Bifidobacterium* in The Gut Microbiota Confer Resilience to Chronic Social Defeat Stress in Mice. *Nature Publishing Group*, **12**(3), 1–8.
- Yousef, A., E., dan V., K., Juneja. 2003. Microbial Stress Adaptation and Food Safety. CRC Press. New York.

LAMPIRAN

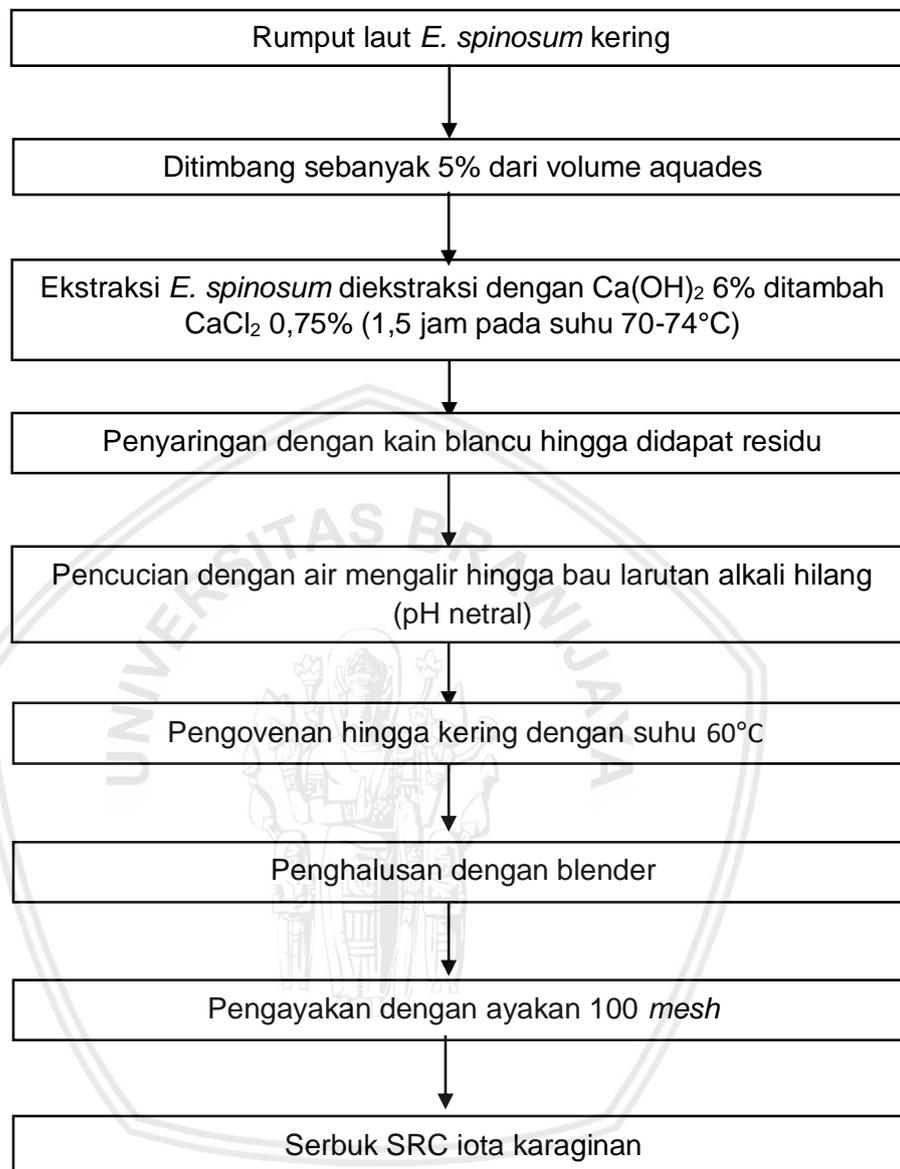
Lampiran 1. Skema Pembuatan Kultur Bakteri (Harmayani et al., 2001)



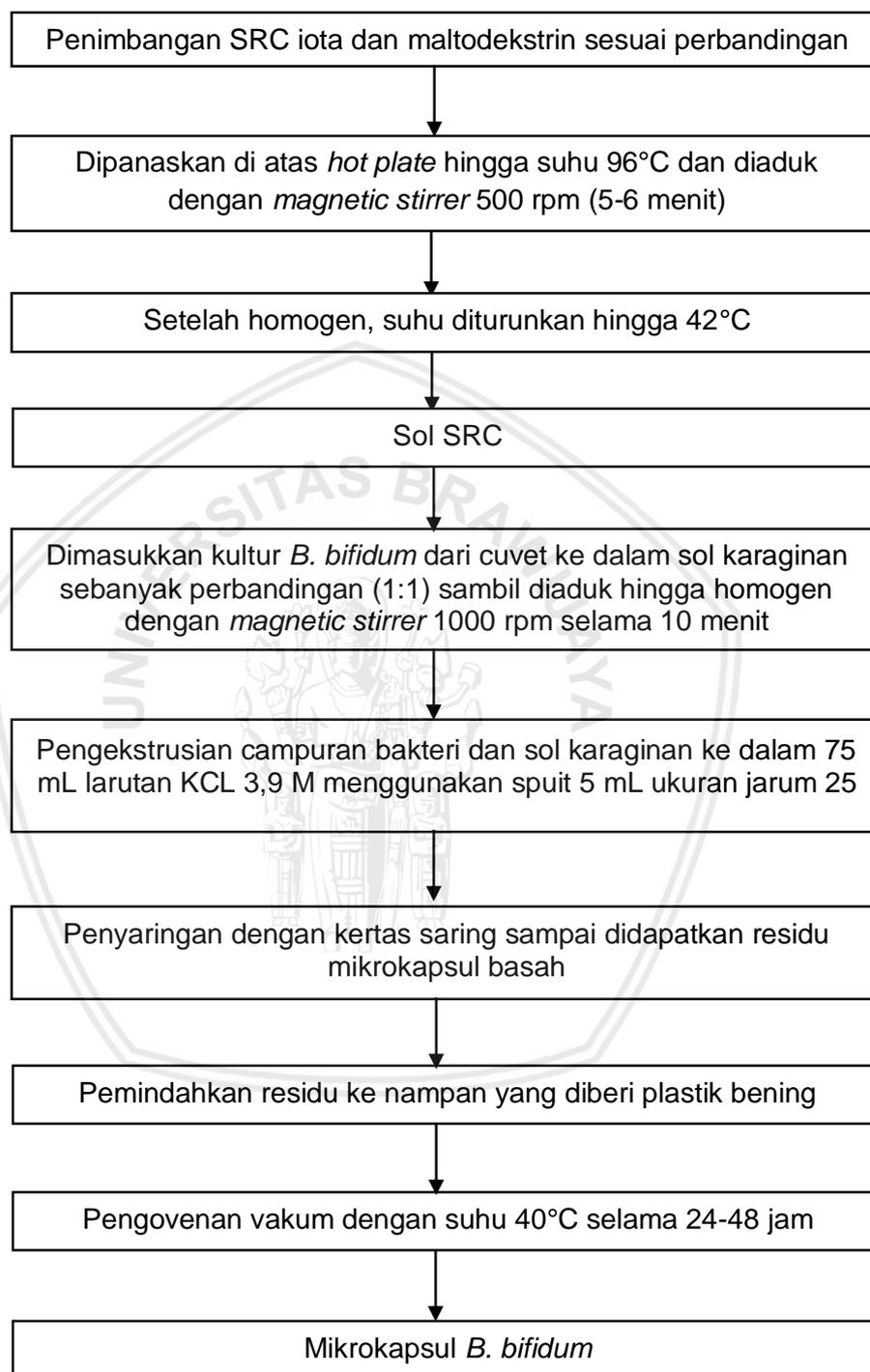
Lampiran 2. Skema Pembuatan Es Krim Cokelat (Masykuri dan Ardila, 2012)

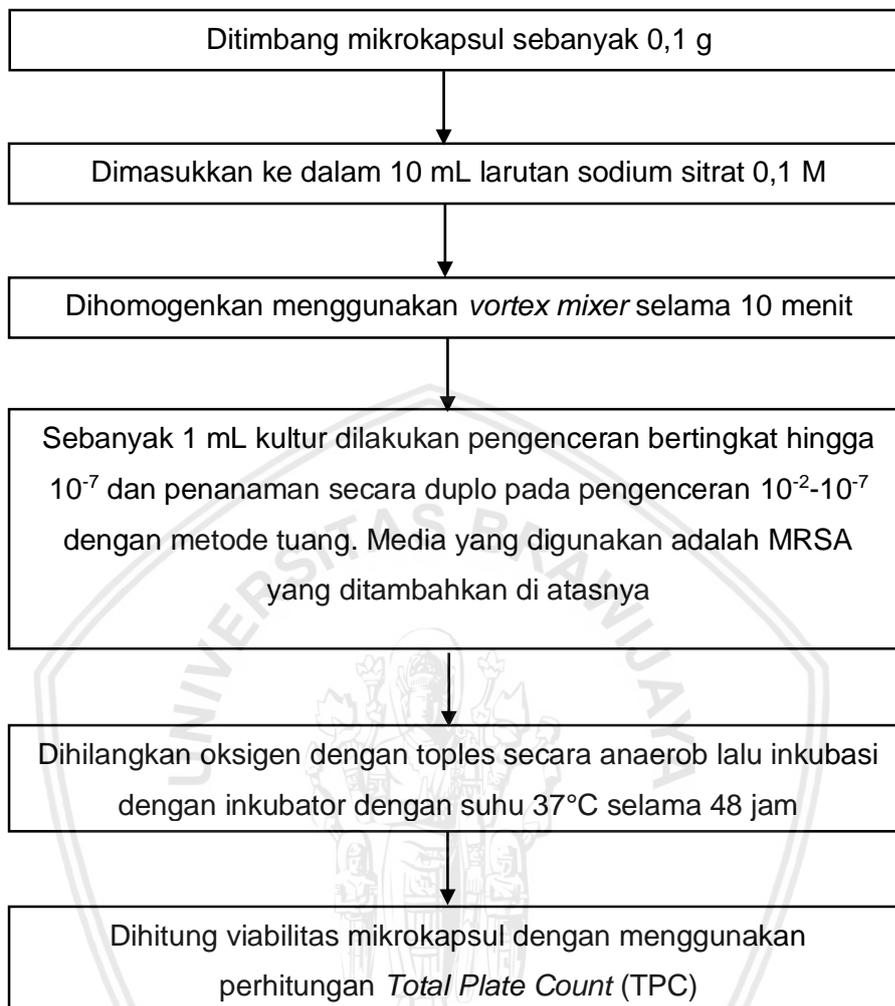


Lampiran 3. Skema Pembuatan SRC *E. spinosum* (Setijawati *et al.*, 2012)



Lampiran 4. Skema Pembuatan Mikro kapsul *B. bifidum* (Manojlovic *et al.*, 2010 dan Setijawati *et al.*, 2012)



Lampiran 5. Skema Uji Viabilitas Mikrokapsul *B. bifidum* (Chavarri et al., 2010)

Lampiran 6. Foto Proses Pembuatan SRC *E. spinosum*



1. Rumput laut *E. spinosum* kering



2. Penimbangan sebanyak 25 g (5% dari volume aquades)



3. Ekstraksi *E. spinosum* dengan Ca(OH)_2 6% ditambah CaCl_2 0,75% (1,5 jam pada suhu 70-74°C)



4. Penyaringan dan pencucian dengan air mengalir hingga pH netral



5. Pengeringan dengan oven (60°C)



6. Penghalusan dengan blender dan diayak dengan ayakan 100 mesh

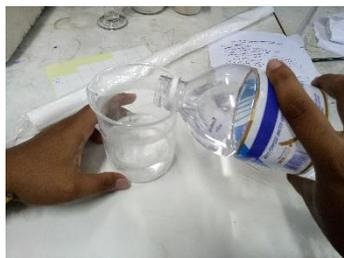


7. SRC Iota halus

Lampiran 7. Foto Proses Pembuatan Mikrokapsul *B. bifidum*



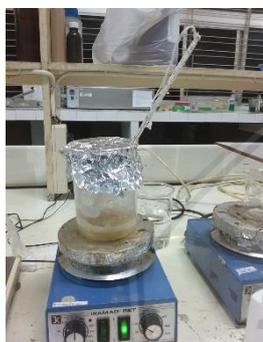
1. Penimbangan SRC iota dan maltodekstrin



2. Pelarutan SRC iota dan maltodekstrin dengan 30 mL aquades



3. Pemanasan dengan hot plate (96°C), diaduk dengan magnetic stirrer 500 rpm (5-6 menit)



4. Setelah homogen, dilakukan penuruan suhu hingga 42°C



5. Persiapan kultur bakteri yang telah disentrifugasi



6. Pencampuran kultur *B. bifidum* ke dalam sol karaginan



7. Pengekstrusian sol ke 75 mL larutan KCl 3,9 M menggunakan spuit 5 mL



8. Penyaringan hingga didapatkan mikrokapsul basah



9. Pemindahan mikrokapsul basah ke nampan yang diberi plastik

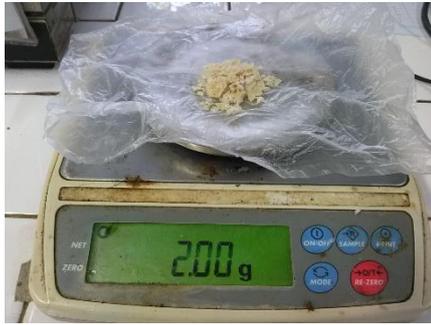


10. Pengeringan dengan oven vakum suhu 40°C (24-48 jam)



11. Mikrokapsul kering

Lampiran 8. Foto Proses Pengujian Viabilitas Mikro kapsul B. bifidum



1. Penimbangan mikro kapsul sebanyak 0,1 g



2. Pelarutan mikro kapsul dengan 10 mL sodium sitrat lalu dihomogenkan dengan vortex mixer



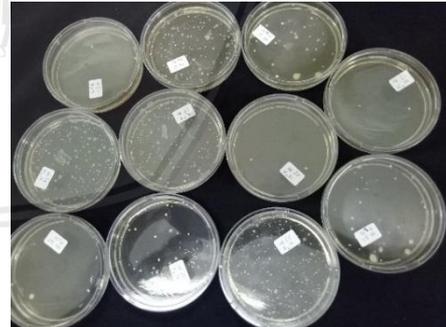
3. Pengenceran bertingkat



4. Penanaman secara duplo



5. Penghilangan oksigen dilanjut diinkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C



6. Perhitungan TPC (Pengamatan)

Lampiran 9. Proses Pembuatan Es Krim Cokelat



1. Persiapan bahan



2. Pencampuran bahan dan pasteurisasi



3. Proses pencampuran



4. Proses pendinginan



5. Homogenisasi dan penambahan mikro kapsul



6. Proses pengemasan dengan cup



7. Proses pembekuan



8. Es Krim cokelat probiotik

Lampiran 10. Analisis Sidik Ragam Viabilitas *B. bifidum*

Data Hasil Analisis Viabilitas *B. bifidum*

Ulangan	Perlakuan				Total
	K1	K2	K3	K4	
1	2,23	4,67	5,67	6,31	
2	2,24	4,79	5,53	6,63	
3	3,01	4,71	5,73	6,82	
4	2,46	4,73	5,71	6,65	
5	2,38	4,74	5,67	6,51	
6	2,32	4,608	5,782	6,704	
Jumlah	14,64	28,248	34,092	39,624	116,604
Rerata	2,44	4,708	5,682	6,604	

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	3	57,580	19,1934	601,411	3,098
Galat	20	0,638	0,0319		
Total	23	58,219			

Keterangan:

F hitung (=601,411) > F5% (=3,098), sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap viabilitas *B. bifidum*. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjutan BNT 5%.

- Uji BNT pada Taraf 5% dan Pemberian Notasi

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(db\ galat)} \times \sqrt{\frac{2\ KT\ galat}{ulangan}}$$

$$BNT_{0,05} = 0,2395$$

Perlakuan	Rerata	Notasi
K1	2,44	a
K2	4,708	b
K3	5,682	c
K4	6,604	d

Kesimpulan :

Setiap perlakuan mempunyai potensi yang berbeda nyata (berbeda-beda). Secara berurutan potensi K4 lebih baik dari K3, K2, dan K1.

Lampiran 11. Analisis Sidik Ragam *Overrun*

Data Hasil Analisis *Overrun*

Ulangan	Perlakuan				Total
	K1	K2	K3	K4	
1	23,76	20	19,5	18,76	
2	23,63	20,19	19,7	18,48	
3	23,83	21,17	20,05	18,34	
4	23,74	20,64	19,12	19,21	
5	23,79	21,25	18,23	18,69	
6	23,63	19,45	20,52	18,69	
Jumlah	142,38	122,7	117,12	112,17	494,37
Rerata	23,73	20,45	19,52	18,695	

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
P	3	87,689	24,3517	96,1699	3,0983
G	20	6,079	0,11792		
Total	23	93,768			

Keterangan:

F hitung (=96,1699) > F5% (=3,0983), sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai *overrun*. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjutan BNT 5%.

- Uji BNT pada Taraf 5% dan Pemberian Notasi

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KT galat}}{\text{ulangan}}}$$

$$BNT_{0,05} = 0,7273$$

Perlakuan	Rerata	Notasi
K4	18,695	a
K3	19,52	ab
K2	20,45	bc
K1	23,73	d

Kesimpulan :

Perlakuan K4 dan K1 berbeda nyata. Potensi *overrun* terbaik didapat pada K1.

Lampiran 12. Analisis Sidik Ragam Total Padatan

Data Hasil Analisis Total Padatan

Ulangan	Perlakuan				Total
	K1	K2	K3	K4	
1	31,79	30,32	36,29	35,68	
2	32,2	32,91	36,16	36,71	
3	31,87	29,3	35,49	36,02	
4	29,24	31,99	32,44	35,72	
5	29,4	33,2	33,69	36,34	
6	29,7	31,42	33,61	36,21	
Jumlah	184,2	189,14	207,68	216,68	797,7
Rerata	30,7	31,52333	34,61333	36,11333	

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
P	3	117,244	39,0812	22,7487	3,0983
G	20	33,305	1,7152		
Total	23	151,548			

Keterangan:

F hitung (=22,7487) > F5% (=3,0983), sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai total padatan. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjutan BNT 5%.

- Uji BNT pada Taraf 5% dan Pemberian Notasi

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KT galat}}{\text{ulangan}}}$$

$$BNT_{0,05} = 1,7278$$

Perlakuan	Rerata	Notasi
K1	30,7	a
K2	31,52333	a
K3	34,61333	ab
K4	36,11333	b

Kesimpulan :Perlakuan K1 dan K2 tidak berbeda nyata dengan K3, tetapi berbeda nyata dengan K4. Sedangkan K3 tidak berbeda nyata dengan K4.

Lampiran 13. Analisis Sidik Ragam Daya Leleh

Data Hasil Analisis Daya Leleh

Ulangan	Perlakuan				Total
	K1	K2	K3	K4	
1	17,54	16,11	14,93	13,24	
2	17,04	16,73	14,76	12,89	
3	17,36	16,13	15,22	13,03	
4	17,47	15,66	15,32	13,44	
5	17,39	17,01	14,16	12,75	
6	17,24	16,44	14,81	12,95	
Jumlah	104,04	98,08	89,2	78,3	369,62
Rerata	17,34	16,34667	14,86667	13,05	

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
P	3	62,8	20,9334	167,974	3,098
G	20	2,492	0,1246		
Total	23	65,293			

Keterangan:

F hitung (=167,974) > F5% (=3,098), sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai daya leleh. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjutan BNT 5%.

- Uji BNT pada Taraf 5% dan Pemberian Notasi

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(db\ galat)} \times \sqrt{\frac{2\ KT\ galat}{ulangan}}$$

$$BNT_{0,05} = 0,4252$$

Perlakuan	Rerata	Notasi
K1	13,05	a
K2	14,9	b
K3	16,348	c
K4	17,34	d

Kesimpulan :

Setiap perlakuan mempunyai potensi yang berbeda nyata (berbeda-beda). Secara berurutan potensi K4 lebih baik dari K3, K2, dan K1.

Lampiran 14. Analisis Data Organoleptik Rasa

Data Hasil Analisis Organoleptik Rasa

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	6	6	6	6
2	6	5	6	6
3	5	5	5	5
4	5	5	5	5
5	6	6	6	6
6	6	6	6	6
7	6	5	5	5
8	6	6	6	6
9	6	5	5	5
10	5	6	6	6
11	5	5	4	4
12	5	5	5	4
13	5	5	5	4
14	6	6	7	7
15	5	5	5	6
16	4	5	5	5
17	6	5	5	5
18	5	5	5	6
19	6	6	6	6
20	5	6	7	7
Rerata	5,45	5,4	5,5	5,5
Total	109	108	110	110

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Nilai	K1	20	40.70
	K2	20	38.20
	K3	20	40.83
	K4	20	42.28
	Total	80	

Test Statistics

	Nilai
Kruskal-Wallis H	1,386
Df	3
Asymp. Sig.	0,943

Keterangan:

Asymp. Sig. ($=0,943$) $> 0,05$, sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap rasa es krim coklat coklat.



Lampiran 15. Analisis Data Organoleptik Tekstur

Data Hasil Analisis Organoleptik Tekstur

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	6	6	6	5
2	5	6	6	6
3	6	4	4	6
4	5	5	5	5
5	5	4	6	6
6	5	5	6	6
7	6	6	6	5
8	5	4	4	4
9	4	5	4	5
10	5	5	5	4
11	5	5	4	4
12	5	5	4	4
13	5	5	5	6
14	4	5	5	5
15	5	6	5	6
16	6	6	6	6
17	5	6	6	6
18	5	6	6	6
19	5	6	6	6
20	6	6	6	6
Rerata	5,15	5,3	5,25	5,35
Total	103	106	105	107

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Nilai	K1	20	36.00
	K2	20	41.48
	K3	20	40.88
	K4	20	43.65
	Total	80	

Test Statistics

	Nilai
Kruskal-Wallis H	1,358
Df	3
Asymp. Sig.	0,715



Keterangan:

Asymp. Sig. ($=0,715$) $> 0,05$), sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap tekstur es krim coklat coklat.



Lampiran 16. Analisis Data Organoleptik Aroma

Data Hasil Analisis Organoleptik Aroma

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	5	5	5	5
2	6	6	6	6
3	5	5	5	5
4	5	7	6	5
5	6	6	6	6
6	5	5	5	5
7	5	4	5	5
8	5	5	5	5
9	5	5	5	5
10	6	6	6	6
11	5	4	4	5
12	5	5	6	6
13	5	5	5	5
14	6	6	6	6
15	6	6	6	5
16	5	6	6	6
17	6	6	5	4
18	6	6	6	6
19	5	6	5	5
20	6	6	6	5
Rerata	5,4	5,5	5,45	5,3
Aroma	108	110	109	106

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Nilai	K1	20	39.50
	K2	20	43.83
	K3	20	42.15
	K4	20	36.53
	Total	80	

Test Statistics

	Nilai
Kruskal-Wallis H	1,431
Df	3
Asymp. Sig.	0,698



Keterangan:

Asymp. Sig. ($=0,698$) $>$ $0,05$, sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap aroma es krim coklat coklat.



Lampiran 17. Analisis Data Organoleptik Warna

Data Hasil Analisis Organoleptik Warna

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	6	6	6	5
2	4	5	5	5
3	5	6	6	6
4	5	5	4	7
5	6	5	5	6
6	6	6	6	6
7	6	6	6	6
8	6	5	5	5
9	5	6	5	5
10	6	6	6	6
11	6	7	5	5
12	6	5	5	5
13	7	6	6	6
14	6	6	7	6
15	5	6	7	6
16	5	6	7	7
17	6	6	6	6
18	5	6	6	6
19	5	5	6	5
20	5	7	5	6
Rerata	5,55	5,8	5,7	5,75
Total	111	116	114	115

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Nilai	K1	20	36.25
	K2	20	43.50
	K3	20	40.50
	K4	20	41.75
	Total	80	

Test Statistics

	Nilai
Kruskal-Wallis H	1,306
Df	3
Asymp. Sig.	0,728



Keterangan:

Asymp. Sig. ($=0,728$) $>$ $0,05$, sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap warna es krim coklat coklat.

