

**PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL *Lactobacillus acidophilus*
TERHADAP VIABILITASNYA DAN KUALITAS ES KRIM COKELAT**

SKRIPSI

**Oleh:
M DZUL AFRIZAL
NIM. 135080300111076**



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

**PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL *Lactobacillus acidophilus*
TERHADAP VIABILITASNYA DAN KUALITAS ES KRIM COKELAT**

SKRIPSI

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

Oleh:
M DZUL AFRIZAL
NIM. 135080300111076



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

SKRIPSI

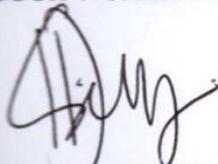
PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL *Lactobacillus acidophilus*
TERHADAP VIABILITASNYA DAN KUALITAS ES KRIM COKELAT

Oleh:
M DZUL AFRIZAL
NIM. 135080300111076

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 23 September 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing 1



Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes
NIP. 19611022 198802 2 001
Tanggal: 20 NOV 2019

Dosen Pembimbing 2



Hefti Sals Yufidasari, S.Pi., MP
NIP. 19810331 201504 2 001
Tanggal: 20 NOV 2019

Mengetahui:
Ketua Jurusan



Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 20 NOV 2019

Judul : **PENGARUH PENAMBAHAN MIKROKAPSUL
Lactobacillus acidophilus TERHADAP
VIABILITASNYA DAN KUALITAS ES KRIM
COKELAT**

Nama Mahasiswa : **M DZUL AFRIZAL**
NIM : **135080300111076**
Program Studi : **Teknologi Hasil Perikanan**

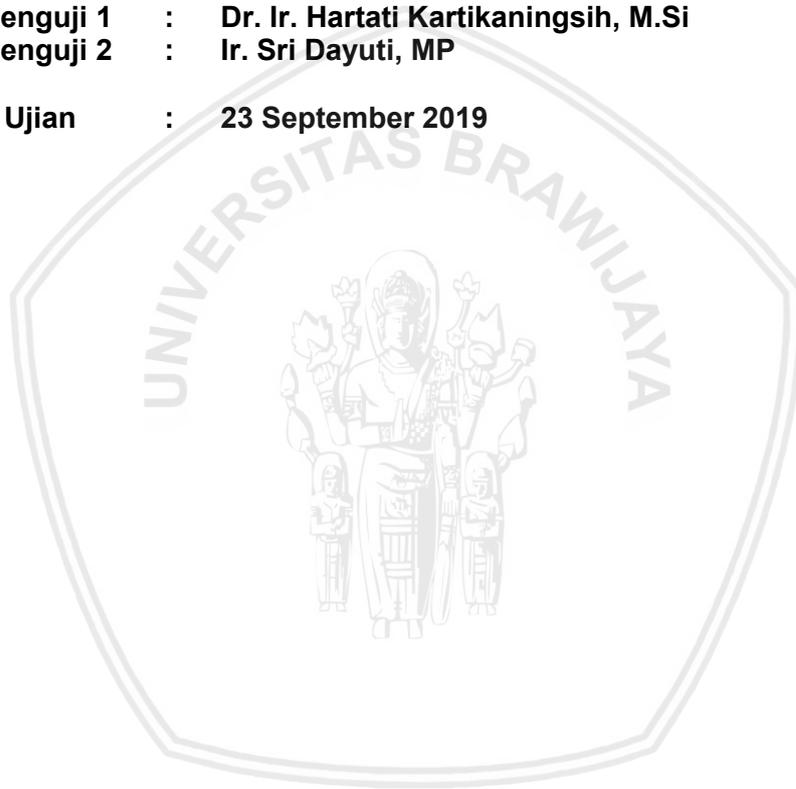
PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : **Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes**
Pembimbing 2 : **Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP**

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si**
Dosen Penguji 2 : **Ir. Sri Dayuti, MP**

Tanggal Ujian : **23 September 2019**



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan penuh kesadaran saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berhasil saya tulis ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Seluruh konten yang berada dalam laporan skripsi ini adalah hasil dari proses pembelajaran dan penelitian saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali kutipan-kutipan yang menjadi acuan yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa konten yang berada pada skripsi ini adalah hasil plagiasi, maka saya bersedia untuk menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia. Terima kasih.

Malang, 2019

Mahasiswa

M_DZUL_AFRIZAL
135080300111076

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penyusunan laporan Skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang selalu memberi rezeki, kekuatan, dan kesehatan.
2. Mama, Papa, Dani, Dwi, serta keluarga yang selalu memberikan dukungan dan doa selama penyusunan laporan Skripsi ini.
3. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes dan Ibu Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dalam penelitian hingga penyusunan laporan Skripsi ini.
4. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si dan Ibu Ir. Sri Dayuti, MP selaku Dosen Penguji Skripsi yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dalam penelitian hingga penyusunan laporan Skripsi ini.
5. Pasangan saya, Silvia Lindy Pradesy yang telah memberikan doa, semangat, dan dukungan selama penyusunan laporan Skripsi ini.
6. Sahabat-sahabat sepermainan di Aloemni Grogol, Tim Mikrokapsul, serta teman-teman seperjuangan di THP 2013 atas doa, semangat, dan bantuannya.

Malang, 2019

Penulis

RINGKASAN

MOHAMMAD DZUL AFRIZAL (135080300111076). Skripsi tentang Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* terhadap Viabilitasnya dan Kualitas Es Krim Cokelat (Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes** dan **Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP**)

Mikroenkapsulasi yaitu suatu proses penyalutan secara langsung terhadap zat aktif dalam bentuk partikel halus dari zat padat, tetesan cairan, dan bentuk terdispersi. Mikroenkapsulasi didefinisikan sebagai teknik pelapisan dan perlindungan senyawa aktif untuk mempertahankan kelangsungan hidup probiotik yang tersalut. Bahan yang mudah ditemukan, ketersediaannya cukup banyak, dan dapat digunakan sebagai bahan penyalut yaitu karaginan dan maltodekstrin. Karaginan dan maltodekstrin merupakan bahan alami yang sangat baik digunakan untuk pembuatan mikroenkapsulasi. Aplikasi teknik mikroenkapsulasi sering kali dilakukan pada jenis bakteri probiotik. Bakteri Probiotik adalah mikroorganisme non patogen yang bila dikonsumsi dapat memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Salah satu jenis yang masuk dalam golongan bakteri probiotik yaitu *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu bakteri paling penting yang ditemukan dalam saluran usus. Salah satu teknik yang sering digunakan untuk mempertahankan viabilitas bakteri probiotik yaitu dengan teknik mikroenkapsulasi. Penggunaan teknik mikroenkapsulasi ini dapat diaplikasikan salah satunya dalam produk es krim cokelat yang umumnya disukai semua kalangan.

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas *L. acidophilus* serta kualitas es krim cokelat yang meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh. Prosedur penelitian meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi pembuatan SRC kappa, penentuan konsentrasi mikrokapsul, dan formulasi es krim cokelat. Sedangkan penelitian utama meliputi viabilitas *L. acidophilus* dan kualitas es krim cokelat meliputi nilai *overrun*, total padatan, dan daya leleh. Parameter uji pada penelitian pendahuluan meliputi analisis bahan penyalut dengan uji FTIR dan IPN Kappa-Maltodekstrin, analisis mikrokapsul dengan pewarnaan gram, aktifitas air, kadar air, dan diameter mikrokapsul. Sedangkan parameter uji pada penelitian utama meliputi uji viabilitas *L. acidophilus*, *overrun*, total padatan, daya leleh, serta organoleptik es krim cokelat probiotik. Data hasil analisa viabilitas *L. acidophilus*, *overrun*, total padatan, dan daya leleh dianalisa menggunakan ANOVA dengan uji lanjutan uji Tukey dan uji Duncan. Sedangkan data hasil analisa organoleptik rasa, tekstur, aroma, dan warna dianalisa menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Hasil penelitian didapat bahwa penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* pada es krim cokelat berpengaruh nyata terhadap viabilitas *L. acidophilus*. Namun berdasarkan analisis kualitas es krim cokelat, penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* pada es krim cokelat tidak berpengaruh terhadap nilai *overrun* es krim cokelat. Tetapi berpengaruh nyata terhadap nilai total padatan dan daya leleh es krim cokelat. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai *overrun* es krim cokelat probiotik dinilai masih rendah dan belum mencapai standar nilai *overrun* yang baik pada produk es krim sehingga pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan peracikan mengenai formulasi es krim probiotik yang cocok untuk mendapatkan karakteristik es krim yang lebih baik dan memenuhi standar.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi sebagai salah satu syarat kelulusan di Universitas Brawijaya pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dengan judul “Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* terhadap Viabilitasnya dan Kualitas Es Krim Cokelat” ini. Pada skripsi ini disajikan tulisan dalam pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan pada bab I, tinjauan pustaka pada bab II, materi dan metode penelitian pada bab III, hasil dan pembahasan pada bab IV, serta kesimpulan dan saran pada bab V.

Sangat disadari bahwa dalam penulisan terdapat kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis walaupun telah dikerahkan segala kemampuan dalam pembuatan skripsi ini, maka penulis mengharapkan saran yang membangun untuk tulisan ini agar bermanfaat bagi para pembaca yang membutuhkan.

Malang, 2019

Penulis

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	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
1.2 Kegunaan.....	4
1.2 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>Lactobacillus acidophilus</i>	13
2.4 Viabilitas Bakteri Probiotik.....	16
2.5 Kappa Karaginan.....	17
2.6 Maltodekstrin.....	20
2.7 Es Krim Cokelat.....	22
2.7.1 Definisi Es Krim.....	22
2.7.2 Es Krim Cokelat.....	23
2.7.3 Komponen Gizi Es Krim Cokelat.....	25
2.7.4 Syarat Mutu Es Krim Cokelat.....	26
2.7.5 Cara Pembuatan Es Krim Cokelat.....	26
2.7.6 Karakteristik Fisik Es Krim Cokelat.....	29
2.7.7 Es Krim Cokelat Berprobiotik.....	29
3. METODE PENELITIAN	31
3.1 Materi Penelitian.....	31
3.1.1 Alat Penelitian.....	31
3.1.2 Bahan Penelitian.....	31
3.2 Metode Penelitian.....	32
3.2.1 Metode.....	32
3.2.2 Variabel Penelitian.....	32
3.2.3 Rancangan Penelitian.....	33
3.3 Prosedur Kerja Penelitian.....	34
3.3.1 Penelitian Pendahuluan.....	34
3.3.1.1 Pembuatan <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC) Kappa.....	34
3.3.1.2 Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode Gel Partikel.....	35
3.3.1.3 Formulasi Es Krim Cokelat.....	35
3.3.2 Penelitian Utama.....	37
3.3.2.1 Viabilitas <i>L. acidophilus</i>	37



3.3.2.2 Analisis Organoleptik.....	37
3.3.3 Parameter Uji Mikrokapsul.....	38
3.3.3.1 <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR).....	38
3.3.3.2 Pewarnaan Gram.....	39
3.3.3.3 Diameter Mikrokapsul.....	40
3.3.3.4 Pengujian Kadar Air.....	41
3.3.3.5 Aktifitas Air (a_w).....	41
3.3.4 Parameter Uji Es Krim Cokelat.....	42
3.3.4.1 Analisis Proksimat.....	42
3.3.4.2 <i>Overrun</i>	42
3.3.4.3 Daya Leleh.....	43
3.3.4.4 Total Padatan.....	43
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan.....	44
4.1.1 Analisis Bahan Penyalut.....	44
4.1.1.1 <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) SRC Kappa dan Maltodekstrin.....	44
4.1.1.2 Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network</i> (IPN).....	47
4.1.2 Analisis Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	48
4.1.2.1 Diameter Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	48
4.1.2.2 Kadar Air Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	50
4.1.2.3 Aktifitas Air Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	51
4.1.2.4 Pewarnaan Gram <i>Lactobacillus acidophilus</i>	51
4.1.3 Kandungan Kimia Es Krim Cokelat.....	53
4.1.4 Nilai Organoleptik Es Krim.....	54
4.2 Penelitian Utama.....	55
4.2.1 Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> dalam Es Krim Cokelat.....	56
4.2.2 Analisis Kualitas Es Krim Cokelat.....	59
4.2.2.1 <i>Overrun</i>	59
4.2.2.2 Total Padatan.....	60
4.2.2.3 Daya Leleh.....	61
4.2.3 Analisis Organoleptik Es Krim Cokelat Probiotik.....	63
4.2.3.1 Rasa.....	63
4.2.3.2 Tekstur.....	64
4.2.3.3 Aroma.....	67
4.2.3.4 Warna.....	69
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	72
5.1 Kesimpulan.....	72
5.2 Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN.....	80

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Beberapa Penelitian Terdahulu Teknik Mikroenkapsulasi.....	7
2. Mikroba yang Sering Digunakan sebagai Probiotik.....	11
3. Komposisi Kimia dan Karakteristik Kappa Karaginan.....	18
4. Karakteristik Kappa Karaginan.....	19
5. Variabel dan Nilai Standar Mutu Maltodekstrin.....	22
6. Beberapa Penelitian Terdahulu Penggunaan Maltodekstrin.....	22
7. Komponen Gizi Es krim Cokelat.....	25
8. Syarat Mutu Es Krim Cokelat menurut SNI 01-3713-1995.....	26
9. Model Rancangan Percobaan dalam Penelitian Utama.....	33
10. Formulasi Es Krim Cokelat.....	36
11. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR SRC Kappa.....	45
12. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR Maltodekstrin.....	46
13. Hasil Analisis Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i>	48
14. Diameter Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i>	52
15. Hasil Analisis Kimia Es Krim Cokelat.....	53
16. Hasil Uji Organoleptik Es Krim Cokelat.....	54



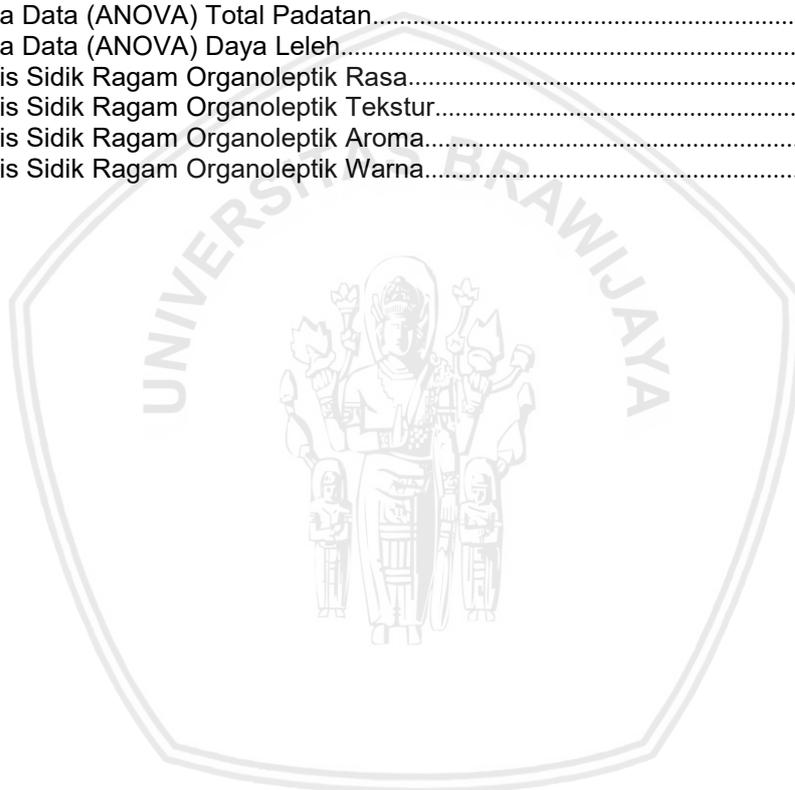
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	14
2. Maltodekstrin.....	21
3. Spektrum FTIR SRC Kappa.....	44
4. Spektrum FTIR Maltodekstrin.....	46
5. Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network</i> (IPN).....	47
6. Diameter Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i>	49
7. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul terhadap Viabilitas <i>L. acidophilus</i>	56
8. Nilai <i>overrun</i> es krim coklat probiotik.....	60
9. Total padatan es krim coklat probiotik.....	61
10. Daya leleh es krim coklat probiotik.....	62
11. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i> terhadap Rasa.....	63
12. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i> terhadap Tekstur.....	65
13. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i> terhadap Aroma.....	68
14. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul <i>L. acidophilus</i> terhadap Warna.....	70



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Flow Chart</i> Pembuatan Es Krim Cokelat.....	80
2. <i>Flow Chart</i> Pembuatan <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC) Kappa.....	81
3. <i>Flow Chart</i> Pembuatan Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	82
4. <i>Flow Chart</i> Pengujian Viabilitas Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	83
5. Dokumentasi Pembuatan <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC) Kappa.....	84
6. Dokumentasi Pembuatan Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	86
7. Dokumentasi Pengujian Viabilitas Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	88
8. Dokumentasi Pembuatan Es krim Cokelat.....	90
9. Analisa Data (ANOVA) Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i>	92
10. Analisa Data (ANOVA) <i>Overrun</i>	94
11. Analisa Data (ANOVA) Total Padatan.....	96
12. Analisa Data (ANOVA) Daya Leleh.....	98
13. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Rasa.....	100
14. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Tekstur.....	101
15. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Aroma.....	102
16. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Warna.....	103



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroenkapsulasi yaitu suatu proses penyalutan secara langsung terhadap zat aktif dalam bentuk partikel halus dari zat padat, tetesan cairan, dan bentuk terdispersi. Mikropartikel merupakan hasil proses mikroenkapsulasi yang digunakan untuk menyalut suatu bahan dengan ukuran yang sangat kecil dengan diameter berkisar 15-20 mikron atau kurang dari setengah diameter rambut manusia (Ismarani, 2011). Menurut Prisco dan Mauriello (2016), mikroenkapsulasi didefinisikan sebagai teknik pelapisan dan perlindungan senyawa aktif untuk mempertahankan kelangsungan hidup probiotik yang tersalut. Bahan yang mudah ditemukan, ketersediaannya cukup banyak, dan dapat digunakan sebagai bahan penyalut yaitu karaginan dan maltodekstrin.

Karaginan dan maltodekstrin merupakan bahan alami yang sangat baik digunakan untuk pembuatan mikroenkapsulasi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Permatasari *et al.*, (2015), viabilitas *L. rhamnosus* setelah mikroenkapsulasi tertinggi dihasilkan oleh mikrokapsul dengan enkapsulan maltodekstrin dengan konsentrasi 30% dari jumlah akuades dengan total bakteri $1,24 \times 10^6$ cfu/g. Berdasarkan penelitian Magfirah *et al.*, (2014), mikroenkapsulasi dengan penyalut maltodekstrin dan gum arab dengan konsentrasi 1:1 menghasilkan jumlah total bakteri sebesar $3,0 \times 10^7$ cfu/g. Aplikasi teknik mikroenkapsulasi sering kali dilakukan pada jenis bakteri probiotik.

Bakteri Probiotik adalah mikroorganisme non patogen yang bila dikonsumsi dapat memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Senyawa hasil metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, bakteriosin, H_2O_2 Bersifat antimikroba dan berbagai enzim seperti laktase dapat membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa (Triana dan Nurhidayat, 2006).

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). Salah satu jenis yang masuk dalam golongan *Lactobacilli* yaitu *Lactobacillus acidophilus*.

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu dari delapan genera umum bakteri asam laktat (BAL). *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4-5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir (Triana dan Nurhidayat, 2006). *Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu bakteri paling penting yang ditemukan dalam saluran usus. Hal ini dikarenakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* membantu menjaga keseimbangan mikroflora di dalamnya (Tenney, 1996). Bakteri *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan fase stationer yang pendek serta diikuti kehilangan viabilitas sel yang cepat, walaupun disimpan pada suhu beku (Charalampopoulos *et al.*, 2002). Pendeknya waktu hidup probiotik ini sebagai alasan bagaimana cara mempertahankan viabilitas probiotik ini agar tetap memberikan efek fungsional. Salah satu teknik yang sering digunakan untuk mempertahankan viabilitasnya yaitu dengan teknik mikroenkapsulasi. Penggunaan teknik mikroenkapsulasi ini dapat diaplikasikan salah satunya dalam produk es krim coklat yang umumnya disukai semua kalangan.

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.

Es krim pada umumnya 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.

Es krim coklat berprobiotik diteliti untuk mengetahui viabilitas *Lactobacillus acidophilus* di dalam es krim coklat dan untuk mengevaluasi sifat sensori es krim coklat yang telah ditambah dengan mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* demi tercapainya pangan fungsional yang menunjang kesehatan tubuh. Penelitian tentang es krim probiotik pernah dilakukan oleh peneliti terdahulu. Ranadheera *et al.*, (2010) melaporkan bahwa *L. acidophilus* dan *Bifidobacterium sp* dapat bertahan hidup dalam jumlah (10^7 hingga 10^8 cfu/g) di atas tingkat minimum (10^7 hingga 10^6 cfu/g) dalam es krim susu kambing hingga 52 minggu di -20 °C yang dikemas dalam polyethylene, polypropylene atau kaca.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* dengan konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap viabilitas *L. acidophilus* serta kualitas es krim coklat yang meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas *L. acidophilus* serta kualitas es krim coklat yang meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

H0 : Penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas *L. acidophilus* serta kualitas es krim coklat yang meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh.

H1 : Penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap viabilitas *L. acidophilus* serta kualitas es krim coklat yang meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh.

1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan hasil yang diperoleh dapat memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan mikrokapsul terhadap viabilitas *L. acidophilus* serta kualitas es krim coklat yang meliputi *overrun*, total padatan, dan daya leleh sehingga dapat digunakan sebagai informasi untuk pengembangannya dikemudian hari.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Hidrologi FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian (FTP) Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) 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 *et al.*, 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	$4,78 \times 10^7 \pm 0,31$
Febriyenti <i>et al.</i> , (2014)	Karbamazepin / emulsifikasi	Alginat	93,264 \pm 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 mudah 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 kappa. 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 μm), mikroenkapsulat (0,2-5000 μm), dan nanomikroenkapsulat (<0,2 μm).

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 *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu bakteri paling penting yang ditemukan dalam saluran usus. Hal ini dikarenakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* membantu menjaga keseimbangan mikroflora di dalamnya (Tenney, 1996). 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)			Selain Spesies BAL
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Spesies BAL Lain	
<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>Leuconostoc 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 inulimus</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 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 Pradikaningrum (2015) 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.

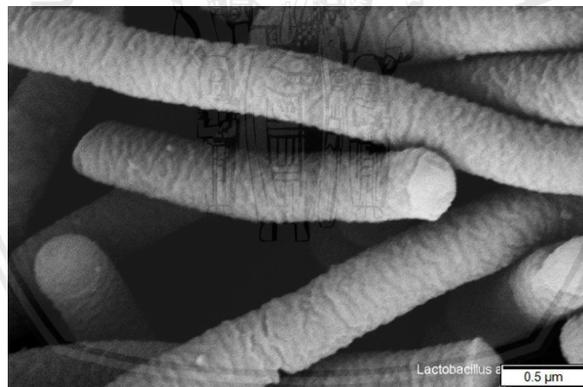
Probiotik mempunyai manfaat yang sangat menguntungkan bagi kesehatan. Enzim yang dimiliki bakteri probiotik seperti laktase menurut Novianto *et al.*, (2013), mampu mengatasi intoleransi gula susu (laktosa), *bile salt hidrolase* membantu menurunkan kadar kolesterol, senyawa dinding sel probiotik (peptidoglikan) 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 *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus merupakan salah satu dari delapan generasi umum bakteri asam laktat (BAL). *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4-5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir (Triana dan Nurhidayat, 2006).

Lactobacillus acidophilus merupakan probiotik yang selama bertahun-tahun banyak digunakan, karena aman dan tidak menimbulkan risiko infeksi berupa bakterimia. *Lactobacillus acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri pathogen seperti *salmonella thypimurium* yaitu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi saluran cerna yang dikenal dengan nama salmonellosis. *Lactobacillus acidophilus* mempunyai populasi $6,9 \times 10^8$ cfu/mL dalam susu fermentasi selama 24 jam (Taufik, 2004). Menurut Tanaka *et al.*, (2016), *Lactobacillus acidophilus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacillales</i>
Family	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>



Gambar 1. *Lactobacillus acidophilus* (Hansen & Mocquot 1970)

Karakteristik bakteri *Lactobacillus acidophilus* diantaranya menurut Kanbe (1992) diantaranya:

1. Tidak tumbuh pada suhu 15°C dan tidak dapat memfermentasi ribosa;
2. Suhu optimum untuk pertumbuhannya berkisar antara $35 - 38^{\circ}\text{C}$ dan pH optimum 5,5 - 6,0;

3. Di dalam susu sapi, bakteri ini memproduksi 0,3 - 1,9% asam laktat; asam yang dihasilkan mempunyai kemampuan yang berbeda antar galur;
4. Umumnya membutuhkan nutrisi berupa asetat, riboflavin, asam pantotenat, kalsium, niasin dan asam folat;
5. Resisten terhadap asam empedu; dan
6. Memproduksi threonine aldolase dan alcohol dehydrogenase yang mempengaruhi aroma.

Lactobacillus acidophilus merupakan probiotik yang selama bertahun-tahun banyak digunakan, karena aman dan tidak menimbulkan risiko infeksi berupa bakterimia (Snydman, 2008). *Lactobacillus acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella thypimurium* yaitu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi saluran cerna yang dikenal dengan nama salmonellosis (Xiaodong *et al.*, 2009).

Menurut Taufik (2004), *L. acidophilus* mempunyai populasi $6,9 \times 10^8$ cfu/mL dalam susu fermentasi selama 24 jam. Afriani dan Haris (2011) menambahkan bahwa *L. acidophilus* mempunyai populasi $8,1 \times 10^9$ cfu/mL dalam susu fermentasi dengan waktu inkubasi 48 jam. *Lactobacillus acidophilus* mampu memproduksi laktase, vitamin K, dan zat anti-mikroba sehingga keberadaan bakteri *L. acidophilus* dalam tubuh membantu menjaga kondisi asam, sehingga mencegah infeksi mikroba. Produk susu yang paling sering menggunakan *L. acidophilus* adalah susu *acidophilus* manis dan yoghurt. Susu yang dibuat dengan inokulasi *L. acidophilus* kemudian difermentasi selama satu hari. Setelah fermentasi, susu berubah menjadi dadih yang mengandung laktosa dalam jumlah minimum. *Lactobacillus acidophilus* juga digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti infeksi saluran kemih (ISK), bacterial vaginosis (BV), dan diare (Hidayat, 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 *Eucheuma sp.* dan *Hypnea sp.*

2.5 Kappa 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 kappa karaginan menurut Istini, *et al.*, (1986) dalam Yani (2006) dan Wenno *et al.*, (2012) tercantum pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Komposisi Kimia dan Karakteristik Kappa Karaginan

Parameter	a	b	Standar FAO
Kadar Air	13,90%	10,86%	Maks. 12%
Kadar Abu	17,09%	22,76%	15-30%
Kadar Protein	2,69%	-	-
Kadar Sulfat	-	27,43%	14-40%

Sumber: a) Istini, *et al.*, (1986) dalam Yani (2006); b) Wenno *et al.*, (2012)

Melihat komposisi kimia kappa karaginan yang banyak, aplikasi karaginan ke dalam makanan sangat menunjang komponen gizi makanan. Selain kandungan kimia di atas, kappa karaginan memiliki kandungan 3,6 anhidro D galaktosa sebesar 28-35% (Glicksman, 1983). Kandungan 3,6 anhidro D galaktosa pada kappa karaginan adalah indikator pembentukan gel. Menurut Glicksman (1983), kappa karaginan dapat larut dalam air panas dan juga dapat

larut dalam air apabila berada dalam bentuk garam sodium. Kekuatan gel dan suhu gelasi kappa karaginan dipengaruhi oleh tipe kation yang ada. Dalam kelarutannya, kappa karaginan lebih sensitif terhadap ion kalium daripada ion kalsium. Karakteristik kappa karaginan menurut Glicksman (1983) terlampir di

Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik Kappa Karaginan

No.	Karakteristik	Jumlah (%)
1.	Ester sulfat	25-30
2.	3,6-anhidro-D-galaktosa	28-35
3.	Kelarutan	
	Air panas	Larut > 70%
	Air dingin	Larut (dengan adanya ion Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺⁺ , dan NH ₄ ⁺)
	Suhu panas	Larut
	Suhu dingin	Tidak larut
	Larutan gula	Larut (panas)
	Larutan garam	Tidak larut
	Pelarut organic	Tidak larut
4.	Gelasi	
	Pengaruh kation	Sangat kuat dengan adanya ion K ⁺
	Tipe gel	Rusak oleh sineresis
5.	Stabilitas	
	pH netral	Stabil
	Asam (pH 3,5)	Larutan mengalami hidrolisis

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 (Hudha *et al.*, 2012). Aplikasi makanan membutuhkan karaginan dari *Rhodophyceae* yang mengandung kandungan ester sulfat lebih dari 20% (Imeson, 1973).

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 enzimatik, 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 (Fasikhatusun, 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 μ m.



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 x 10 ⁷ ±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 dan Tri, 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% (Standar Nasional Indonesia, 1995).

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 *et al.*, 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).

2.7.3 Komponen Gizi Es Krim Cokelat

Es krim cokelat merupakan kategori makanan yang mudah dicerna oleh tubuh dan pada bahan cokelatunya 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 pada **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	
	6.2 Pewarna tambahan	-	Negative
	6.3 Pemantap 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 dimasukan 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 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.

Es krim yang baik harus memenuhi standar kualitas es krim diantaranya *overrun*, total padatan, dan daya leleh, serta tidak merubah karakteristik organoleptik es krim pada umumnya. Nilai *overrun* yang baik untuk produk es krim berkisar antara 28-30% (Marshall dan Arbuckle, 2000). Menurut SNI 01-3713-1995, total padatan minimum pada es krim adalah 34%. Total padatan pada es krim sebaiknya tidak lebih dari 40,42% (Marshall dan Arbuckle, 2000). 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. Susanti (2005) menyatakan daya leleh es krim yogurt kedelai berkisar antara 12.07 menit sampai 16.48 menit.

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 $8 \log \text{ cfu/g}$, daya tahan hidup probiotik bergantung pada strain probiotik, jenis cokelat, dan suhu dan lamanya penyimpanan (Kemsawasd *et al.*, 2016).

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 kappa 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 *L. acidophilus*) 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 kappa adalah rumput laut *E. cottoni* 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 *L. acidophilus* yang diperoleh dari stok Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bahan untuk pembuatan mikrokapsul adalah SRC kappa, maltodekstrin merk lokal, KCl

3,9 M, aquades, dan kultur bakteri *L. acidophilus*. 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 *L. acidophilus* 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 sebagai berikut:

Variabel bebas	:	Perbedaan konsentrasi mikrokapsul <i>L. acidophilus</i>
Variabel terikat	:	Viabilitas <i>L. acidophilus</i> dan karakteristik organoleptik es krim coklat berprobiotik

3.2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian bertujuan untuk mengetahui hasil viabilitas *L. acidophilus* 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:

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

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

$$3r-3 \geq 15$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 6$$

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 *L. acidophilus*

K2 : Es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 2%

K3 : Es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 6%

K4 : Es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 10%

Hasil penelitian yang diperoleh dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA), sedangkan untuk mengetahui pengaruh 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.

3.3 Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

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

3.3.1.1 Pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Kappa (Setijawati *et al.*, termodifikasi, 2012)

Rumput laut *Eucheuma cottoni* pertama dicuci sampai bersih dengan air yang mengalir lalu dijemur hingga kering. Rumput laut yang sudah kering kemudian ditimbang 20 gr dengan timbangan digital, disiapkan KOH 6% yang dilarutkan dalam akuades 400 mL, lalu diaduk sampai merata menjadi larutan. Pada proses selanjutnya bahan diekstraksi ke dalam *waterbath* selama 90 menit dengan suhu 70-74 °C. Kemudian setelah diekstraksi ditambahkan KCl 3gr (0,75%), setelah itu disaring dengan kain blacu, setelah itu dilakukan pencucian

dengan air mengalir sampai bau larutan alkali menghilang (pH netral). Selanjutnya dipotong kecil-kecil dan dioven hingga kering dengan suhu 60 °C selama 24 jam. Rumput laut yang telah kering dihaluskan dan diayak dengan menggunakan ayakan 100 mesh sampai mendapatkan serbuk SRC kappa. Skema pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Kappa dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3.1.2 Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode Gel Partikel (Manojlovic et al., termodifikasi, 2010)

Disiapkan alat dan ditimbang SRC kappa dan maltodekstrin sesuai dengan perlakuan perbandingan konsentrasi. Kemudian ditambahkan 30 mL akuades dan dipanaskan di atas *hot plate* dengan *magnetic stirrer* hingga mencapai suhu 97 °C dengan kecepatan 500 rpm sampai homogen. Setelah homogen, sol karaginan diangkat dari *hot plate* dan suhunya diturunkan hingga 40 °C. Selanjutnya dimasukkan kultur *Lactobacillus acidophilus* ke dalam sol karaginan sebanyak 30 mL sambil diaduk hingga homogen. Pengekstrusian campuran bakteri dan sol karaginan ke dalam 75 mL larutan KCl 3,9 M menggunakan spuit 5mL ukuran jarum 25. Mikrokapsul yang didapat disaring menggunakan kertas saring dan didapatkan residu mikrokapsul basah. Setelah itu dikeringkan menggunakan oven vakum dengan suhu 40 °C selama 48 jam, dan didapatkan mikrokapsul *L. acidophilus*. Skema pembuatan mikrokapsul *L. acidophilus* dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

3.3.1.3 Formulasi Es Krim Cokelat (Masykuri dan Ardila, 2012)

Formulasi adonan yang dibuat atau diinginkan adalah es krim cokelat dengan komposisi susu skim 15%, tepung maizena 12%, gula 12%, emulsi SP 1%, cokelat batang 10%, dan air 50%. Es krim cokelat probiotik kontrol tanpa

mikrokapsul (K1) dibuat dengan cara menambahkan 6 mL kultur dalam 100 g adonan. Sedangkan untuk penambahan mikrokapsul ditambahkan sesuai kadar penambahan pada setiap perlakuan yaitu es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 2% (K2) yaitu sebanyak 2 g dalam 100 g adonan, es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 6% (K3) yaitu sebanyak 6 g dalam 100 g adonan, dan es krim coklat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 10% (K4) yaitu sebanyak 6 g dalam 100 g adonan. Penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* dan kultur bebas bakteri probiotik ke dalam es krim coklat dilakukan bersamaan dengan adonan lain.

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. Kemudian dilakukan pemanasan dengan pasteurisasi, untuk membantu melarutkan bahan-bahan padat dan membunuh mikroba patogen. Kemudian dilanjutkan dengan proses penuaan adonan dan kemudian dituang pada cup kertas untuk selanjutnya dibekukan.

Setelah itu es krim dibungkus dengan cup kertas dan dibekukan dan disimpan pada suhu 25 °C sampai -30 °C. Skema pembuatan es krim coklat dapat dilihat pada **Lampiran 1**. Formulasi pembuatan es krim coklat 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 *L. acidophilus* (Chavarri et al., 2010)

Pengujian viabilitas sel bakteri asam laktat *L. acidophilus* dilakukan pada media MRSA dengan metode tuang (*plate count*) dengan seri pengenceran 10^1 hingga 10^5 . 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 10^5 , sebanyak 1 mL hasil pengenceran ditanam (10^2 - 10^5) ke dalam cawan petri kemudian dituang media MRSA ke atasnya, lalu digoyang-goyang agar merata dan selanjutnya diinkubasi secara anaerob dengan inkubator dengan suhu $37\text{ }^\circ\text{C}$ selama 48 jam (2 hari). Sedangkan pengujian viabilitas sel bakteri asam laktat *L. acidophilus* 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 $37\text{ }^\circ\text{C}$ selama 24-72 jam kondisi anaerob. Dihitung koloni bakteri sebagai cfu/mL yang diperoleh dengan perhitungan TPC. Skema pengujian viabilitas mikrokapsul *L. acidophilus* dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

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 Mikro kapsul

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) kappa yang didapatkan dari hasil ekstraksi rumput laut jenis *Eucheuma cottoni*. *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 cottoni* dan Maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 3** dan **Gambar 4**.

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 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, maka pembacaan skala a_w ditambahkan sebanyak kelebihan temperatur dikalikan dengan faktor koreksi sebesar 0,002, begitu pula dengan temperatur di bawah $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

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 nutrisi 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 nutrisi bahan pangan dapat diketahui dengan mengurai (menganalisis) komponen pangan dan pakan secara kimia. Teknik analisis yang umum untuk mengetahui kadar nutrisi 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 nutrisi secara rinci namun berupa nilai perkiraan sehingga disebut analisis proksimat (Hernawati, 2011).

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:

$$\text{Overrun} = \frac{V1-V2}{V2} \times 100\%$$

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 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

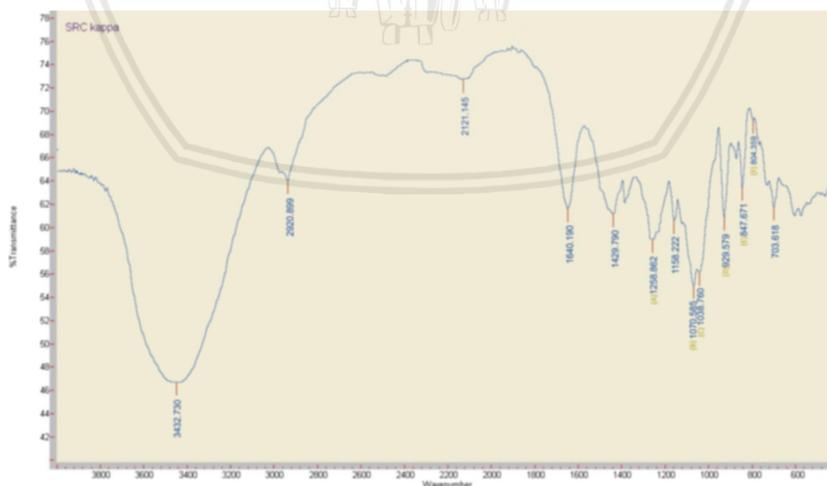
4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan

Pada tahap penelitian pendahuluan dilakukan pengujian terhadap 3 (tiga) komponen penting yaitu bahan penyalut, mikro kapsul, dan karakteristik es krim coklat dengan penambahan kappa karaginan yakni E1 (3% per-100 g bahan), E2 (4% per-100 g bahan), dan E3 (5% per-100 g bahan) dengan kombinasi penambahan maltodekstrin 5% 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 Kappa dan Maltodekstrin*

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



Gambar 3. Spektrum FTIR SRC Kappa

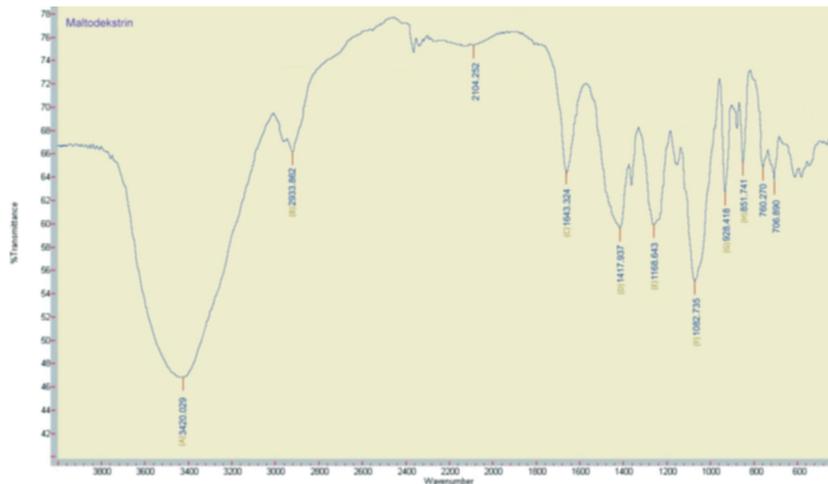
Semi Refined Carrageenan (SRC) kappa memiliki hasil gugus fungsi ester sulfat pada bilangan gelombang 1258.862 cm^{-1} . Gugus fungsi glikosidik

pada bilangan gelombang 1070,585; 1038,760 cm^{-1} . Gugus fungsi Anhidro-Galaktosa (AG) pada bilangan gelombang 929,579 cm^{-1} . Gugus fungsi galaktosa sulfat pada bilangan gelombang 847,671 cm^{-1} . Gugus fungsi galaktosa 2 sulfat pada bilangan gelombang 804,359 cm^{-1} . Hasil gugus fungsional pita serapan FTIR *Semi Refined Carrageenan* kappa dapat dilihat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR SRC Kappa

Kode	Gugus Fungsi	Hasil Penelitian	Setijawati (2014)
A	Ester sulfat (O-SO_3^-)	1258.862 cm^{-1}	1210-1260 cm^{-1}
B, C	Ikatan glikosidik ($-\text{CH}_2$)	1070,585, 1038,760 cm^{-1}	1010-1080 cm^{-1}
D	3,6-anhidrogalaktosa	929,579 cm^{-1}	928-933 cm^{-1}
E	D-galaktosa-4-sulfat	847,671 cm^{-1}	840-850 cm^{-1}
F	D-galaktosa-2-sulfat	804,359 cm^{-1}	800-805 cm^{-1}

Berdasarkan hasil identifikasi spektrofotometri inframerah dan uraian dari bilangan gelombang, maka dapat disimpulkan bahwa karaginan yang dianalisis merupakan tipe kappa karaginan. Hal ini didapatkan dengan adanya D-galaktosa 2-sulfat, galaktosa 4 sulfat dan 3,6-anhidrogalaktosa. Hal ini juga didukung oleh Setijawati (2017), yang menyatakan bahwa *Eucheuma cottoni* yang mengandung kappa karaginan tersusun dari D-galaktosa-4-sulfat dan 3,6-anhidrogalaktosa. Intensitas absorpsi dari ikatan glikosidik dan 3,6-anhidrogalaktosa sangat kuat, sedangkan pada ester sulfat agak kuat. Ini disebabkan karena keberadaan K^+ pada larutan KOH dapat memecah ester sulfat menjadi 3,6-anhidrogalaktosa. Sedangkan hasil identifikasi FTIR maltodekstrin tercantum pada **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**.

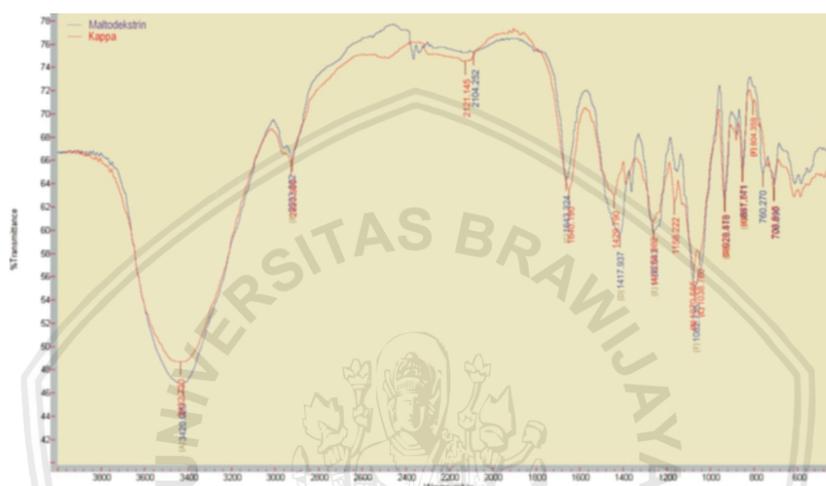
Tabel 12. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR Maltodekstrin

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, *et al.*, 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).

Berdasarkan hasil identifikasi dengan spektrokopi inframerah dan uraian dari bilangan gelombang, maka dapat disimpulkan bahwa yang dianalisis merupakan maltodekstrin. Hal ini didapatkannya adanya gugus alcohol O-H, gugus alifatik C=C dan gugus alkane C-H.

4.1.1.2 Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN)



Gambar 5. Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN)

Pada **Gambar 5.** menunjukkan bahwa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) kappa dan maltodekstrin dapat berikatan silang membentuk jaringan polimer interpenetrasi atau *Interpenetrating Polymer Network* (IPN). Kedua bahan polimer tersebut dapat berinterpenetrating 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 antar jaringan atau dengan kata lain dua atau lebih jaringan tersebut akan terjerat sedemikian rupa dan tidak dapat dipisahkan, tetapi tidak terikat satu sama lain oleh ikatan kimia (hanya terikat secara fisika) (Banerjee *et al.*, 2010).

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 *Lactobacillus acidophilus*

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

Tabel 13. Hasil Analisis Mikrokapsul *L. acidophilus*

Parameter	Nilai
Ukuran Partikel Mikrokapsul (Diameter)	43,22
Kadar Air Mikrokapsul	7,42
Aktivitas Air Mikrokapsul	0,643
Viabilitas Mikrokapsul	6,42 log cfu/g

4.1.2.1 Diameter Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*

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 *L. acidophilus*

Hasil pengamatan didapat diameter mikrokapsul *L. acidophilus* yang tersalut kappa 4% dan maltodekstrin 5% yaitu 43,22 μm . Konsentrasi penyalut yang sama menyebabkan proses gelasi yang terjadi antara SRC kappa 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 *Lactobacillus* 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 *L. acidophilus* memiliki ukuran antara 14,45 μm sampai 18,78 μm . Risch dan Reineccius (1995) membagi

mikroenkapsulat berdasar ukuran menjadi tiga, yaitu makroenkapsulat ($>5000 \mu\text{m}$), mikroenkapsulat ($0,2-5000 \mu\text{m}$), dan nanomikroenkapsulat ($<0,2 \mu\text{m}$). Diameter mikrokapsul *L. acidophilus* hasil penelitian berukuran kurang dari $100 \mu\text{m}$ sehingga dimungkinkan tidak akan mengganggu tekstur es krim cokelat berprobiotik.

4.1.2.2 Kadar Air Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*

Kadar air merupakan parameter penting yang berhubungan dengan stabilitas produk selama penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar air mikrokapsul *L. acidophilus* dengan penyalut SRC kappa 4% dengan maltodekstrin 5% yaitu sebesar 7,42. Berdasarkan penelitian Rajam dan Anandharamakrishnan (2015), menyatakan bahwa kadar air mikrokapsul yang dihasilkan berkisar antara 5,52 – 9,47 g/100g. Arslan *et al.*, (2015), kadar air mikrokapsul yang dihasilkan berkisar antara 6,25 – 8,22 g/100g, tetapi dalam studi yang berbeda diperoleh kadar air mikrokapsul probiotik sebesar 7,4-9,9 g/100 g (Rizqiati *et al.*, 2009).

Konsentrasi penyalut yang digunakan yaitu SRC kappa dan maltodekstrin berbanding lurus terhadap nilai kadar air, semakin tinggi konsentrasi bahan penyalut, semakin tinggi pula nilai kadar airnya. Hal ini dapat disebabkan karena tingkat gelasi yang dimiliki oleh SRC kappa dan maltodekstrin tersebut. Tripathi dan Giri (2014) menyatakan bahwa tingginya kekentalan akan menyebabkan air yang terperangkap dalam struktur mikrokapsul semakin tinggi sehingga akan sulit menguap pada proses pengeringan. Dari hasil penelitian yang dilakukan, kadar air mikrokapsul sudah memenuhi standar.

4.1.2.3 Aktivitas Air Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*

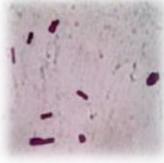
Hasil penelitian nilai aktivitas air (a_w) mikrokapsul bakteri *L. acidophilus* tersalut SRC kappa 4% dan maltodekstrin 5% sebesar 0,643. Nilai a_w mikrokapsul hampir sama dengan beberapa penelitian terdahulu yang sejenis. a_w mikrokapsul *L. acidophilus* tersalut kappa-iota-maltodekstrin dengan metode ekstrusi-oven vakum yakni sebesar 0,67 (Veny, 2016). Kurozawa *et al.*, (2009), menyatakan bahwa aktivitas air yang dihasilkan dari proses mikroenkapsulasi berpenyalut maltodekstrin berkisar antara 0,5-0,7. Aktivitas air dengan nilai 0,7 dapat mempengaruhi stabilitas mikrobiologi yang terdapat pada mikrokapsul probiotik sehingga dapat meningkatkan viabilitas bakteri yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian Hernandez *et al.*, (2014) aktivitas air mikrokapsul bakteri probiotik yang baik berkisar antara nilai 0,6-0,9.

Aktivitas air yang dihasilkan berbanding lurus dengan hasil viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang diperoleh. Hal ini dikarenakan aktivitas air mampu menunjukkan jumlah air bebas yang terkandung di dalam mikrokapsul yang dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroba. Hal tersebut penting untuk *transport nutrien*, membuang bahan sisa, mengadakan reaksi enzimatik, sintesis materi sel, dan mengambil bagian dalam reaksi biokimia lain seperti hidrolisis.

4.1.2.4 Pewarnaan Gram *Lactobacillus acidophilus*

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 *L. acidophilus* tersaji pada **Tabel 14**.

Tabel 14. Hasil Verifikasi *L. acidophilus*

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

Berdasarkan hasil dari uji pewarnaan gram diperoleh bakteri berbentuk batang dengan warna ungu seperti warna pewarna kristal violet dan termasuk bakteri gram positif. Hasil ini sudah sesuai dengan literatur pembandingan. Menurut Pelczar dan Chan (2006), *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri gram positif lurus atau lengkung, nonmotil, anaerobik atau aerobik fakultatif. Untuk morfologi bakteri *Lactobacillus acidophilus* antara lain adalah dalam bentuk batang, bervariasi dari panjang dan ramping sampai kokobasilus pendek. Beberapa galur memperlihatkan tubuh-tubuh bipolar, granulasi internal atau penampilan seperti batang dengan reaksi gram atau pewarna biru metilen.

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±SD	SNI (1995)
	E1	E2	E3		
Kadar Air	47,72%	45,67%	46,26%	46,55±1,05	-
Kadar Lemak	21,09%	19,93%	21,42%	20,81±0,78	Min 5%
Kadar Karbohidrat	25,12%	27,00%	28,14%	26,75±1,52	Min 8%
Kadar Protein	3,51%	3,56%	3,05%	3,37±0,28	Min 2,7%

Keterangan:

- E1 : Es krim cokelat dengan Penambahan Kappa Karaginan 3% dan Maltodekstrin 5%
- E2 : Es krim cokelat dengan Penambahan Kappa Karaginan 4% dan Maltodekstrin 5%
- E3 : Es krim cokelat dengan Penambahan Kappa Karaginan 5% dan Maltodekstrin 5%

Kandungan gizi es krim cokelat 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 cokelat 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	6,90	7,25	5,80
Rasa	7,10	7,10	6,25
Aroma	6,50	6,70	6,15
Warna	6,75	6,80	6,45

Keterangan:

- E1 : Es krim coklat dengan Penambahan Kappa Karaginan 3% dan Maltodekstrin 5%
- E2 : Es krim coklat dengan Penambahan Kappa Karaginan 4% dan Maltodekstrin 5%
- E3 : Es krim coklat dengan Penambahan Kappa Karaginan 5% dan Maltodekstrin 5%

Rata-rata tertinggi dari semua parameter adalah es krim coklat pada perlakuan E2 dengan rentang nilai rata-rata 6,70 - 7,25 (agak suka - suka) baik dari segi tekstur, rasa, aroma, dan warna. Sementara itu es krim coklat pada perlakuan E1 memiliki rata-rata tertinggi kedua setelah E2 dengan rentang nilai rata-rata 6,50 - 7,10 (agak suka - suka). Sedangkan es krim coklat pada perlakuan perlakuan E3 merupakan perlakuan dengan tingkat kesukaan terendah setelah perlakuan E2 dan E1 dengan rentang nilai rata-rata 6,15 - 6,45 (agak suka - suka).

Es krim coklat pada 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

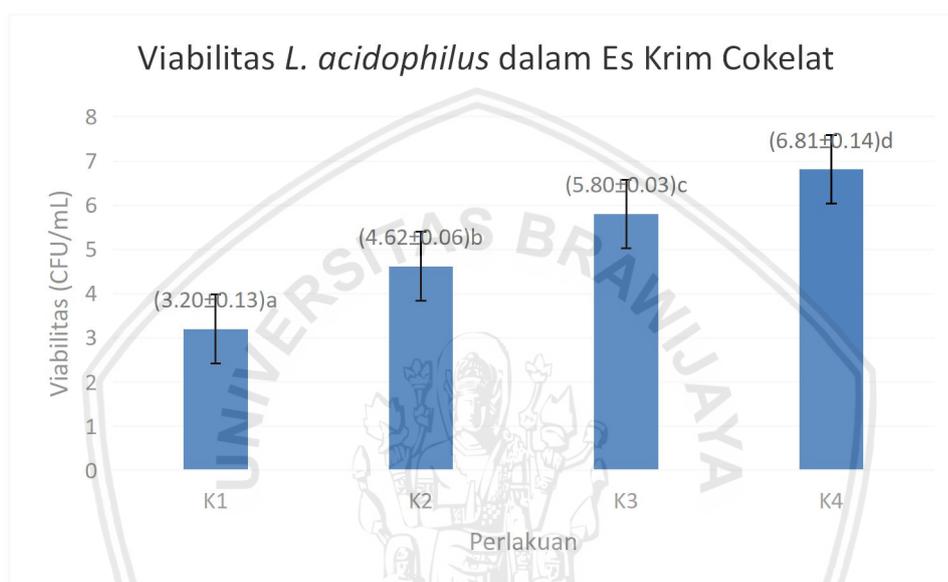
terendah karena panelis menilai bahwa warnanya terlalu gelap, aroma cokelatnyanya kurang khas, dan rasanya yang kurang disukai, hal ini dimungkinkan karena konsentrasi penambahan mikrokapsul yang terlalu banyak sehingga atribut sensori es krim cokelat ini jauh berbeda dengan produk es krim cokelat pada umumnya. Sedangkan es krim cokelat pada 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 cokelat pada perlakuan E2 paling disukai oleh hampir 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 cokelat, dapat disimpulkan bahwa sampel terbaik adalah es krim cokelat pada perlakuan E2 (penambahan mikrokapsul dengan kombinasi kappa karaginan 4% dan maltodekstrin 5%). Maka pada penelitian utama digunakan formulasi E2. Pada tahap penelitian utama dilakukan pembuatan es krim cokelat dengan penambahan mikrokapsul yakni K1 (es krim cokelat dengan penambahan sel bebas *L. acidophilus*), K2 (es krim cokelat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 2%), K3 (es krim cokelat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 6%), dan K4 (es krim cokelat dengan penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* 10%). Berikut adalah hasil penelitian utama.

4.2.1 Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* 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. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul terhadap Viabilitas *L. acidophilus*

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 *L. acidophilus*. Viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan K4 yakni 6,81 log cfu/mL, sedangkan viabilitas terendah pada perlakuan K1 dengan viabilitas sebesar 3,20 log cfu/mL. Hanya perlakuan K4 (penambahan 10% mikrokapsul) yang menghasilkan viabilitas sesuai batasan FAO (106-107 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 di lampiran.

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 *L. acidophilus* pada batas minimum FAO. Hal ini menjadi bukti bahwa coklat mampu menjalankan fungsinya sebagai pengantar probiotik. Penambahan strain probiotik yang dienkapsulasi ke dalam coklat bisa menjadi media yang sangat baik untuk melindungi mereka dari lingkungan kondisi stres dalam coklat, fraksi lipid dari mentega kakao terbukti protektif untuk *bifidobakteri* (Konar *et al.*, 2016). Viabilitas probiotik dalam dark coklat dievaluasi pada suhu 18 ± 2 °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 coklat dengan perlakuan K1 menghasilkan viabilitas 3,20 log cfu/mL. Perlakuan K2 yang berviabilitas rendah diduga karena kurangnya penambahan mikrokapsul dan suhu pembekuan es krim coklat yang mencapai -8 °C. Suhu optimum untuk pertumbuhan *L. acidophilus* berkisar antara 35-38 °C dan pH optimum 5,5-6,0 (Kanbe, 1992). Diduga fraksi lemak dan polifenol es krim melindungi bakteri dari suhu pengolahan dan keberadaan oksigen sehingga ada beberapa sel yang hidup. Bakteri tidak mempunyai protein yang stabil pada suhu tinggi, bila sel terpapar panas tinggi maka protein akan mengalami kerusakan sehingga sel mengalami kematian (Magfirah *et al.*, 2015). Boylston *et al.*, (2004) menyatakan bahwa industri pangan mengaplikasikan jumlah minimum konsumsi probiotik yang direkomendasikan (106 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.

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.

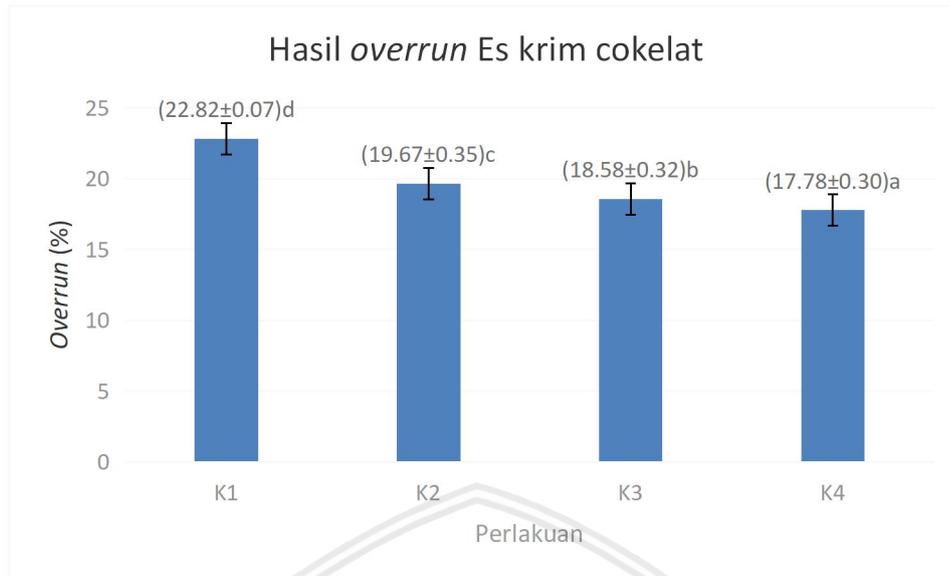
Viabilitas yang rendah pada K2 dan K3 diduga karena terlalu sedikitnya jumlah mikrokapsul yang ditambahkan sehingga banyak bakteri yang mati selama pengolahan es krim probiotik. Probiotik mengalami pertumbuhan optimal pada suhu $35-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, tetapi dapat mentoleransi suhu sampai $46\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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).

4.2.2 Analisis Kualitas 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.

4.2.2.1 *Overrun*

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). Nilai *overrun* es krim yang dihasilkan dapat dilihat pada **Gambar 8**.



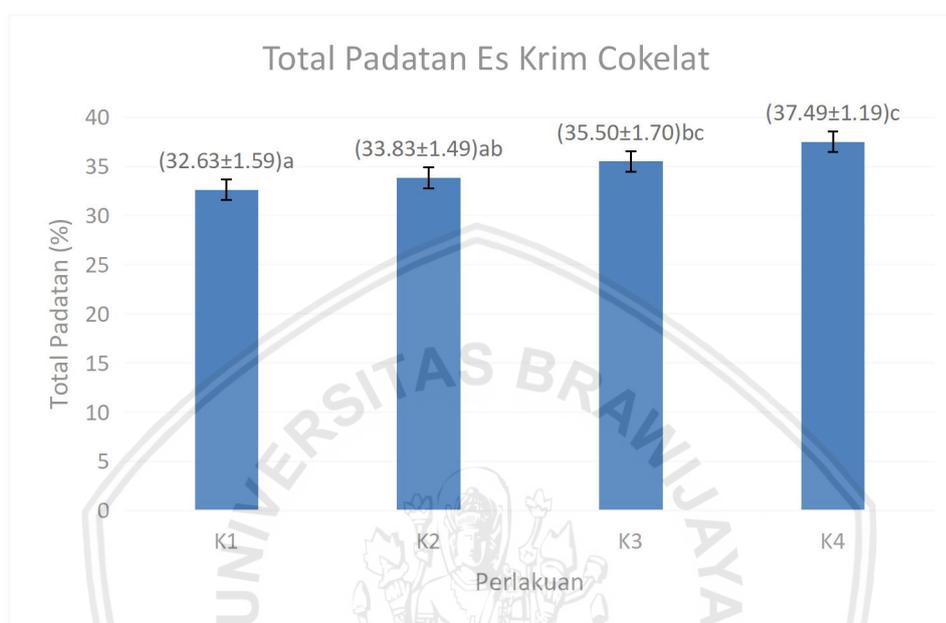
Gambar 8. Nilai *overrun* es krim coklat probiotik

Menurut Arbuckle (1986), *overrun* terjadi melalui proses terperangkapnya udara pada rantai pendek protein, lemak, dan laktosa. Rendahnya nilai *overrun* es krim yang dihasilkan karena penambahan mikrokapsul yang cukup banyak. Semakin banyak mikrokapsul yang ditambahkan pada es krim maka es krim akan semakin sulit untuk mengembang. Hal ini dikarenakan partikel mikrokapsul yang ditambahkan akan menghalangi udara yang terperangkap dalam adonan es krim selama proses pemutaran adonan es krim dengan baling-baling. Nilai *overrun* yang baik untuk produk es krim berkisar antara 28-30% (Marshall dan Arbuckle, 2000). Pada penelitian nilai *overrun* terbaik didapat pada es krim coklat K1 yaitu dengan nilai 22,82%. Analisa data (ANOVA) nilai *overrun* dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

4.2.2.2 Total Padatan

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. Total padatan es krim cokelat dapat dilihat pada **Gambar 9**.



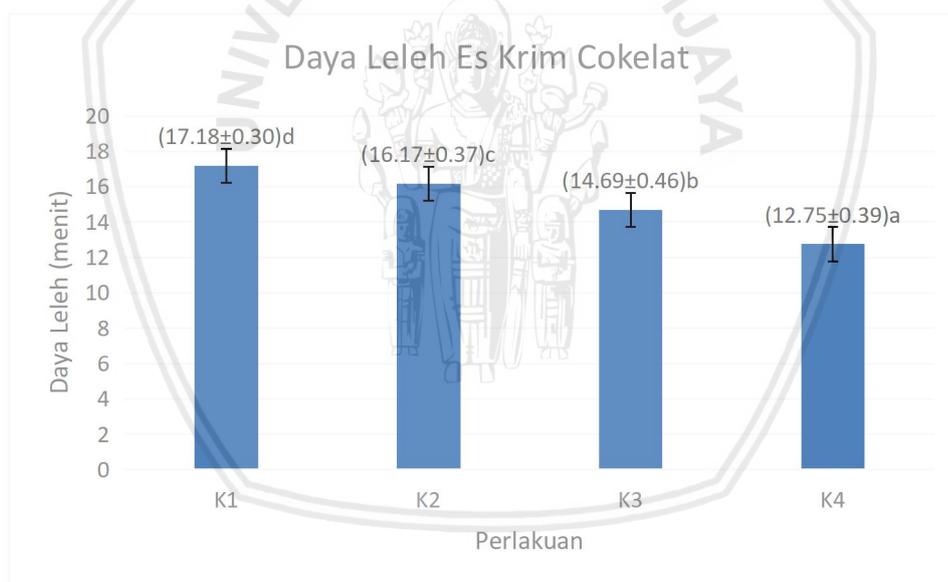
Gambar 9. Total padatan es krim cokelat probiotik

Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa es krim cokelat K4 memiliki total padatan yang lebih tinggi dibanding semua perlakuan dengan nilai 37,49%. Hal ini disebabkan mikrokapsul yang ditambahkan pada perlakuan K4 lebih banyak. Menurut SNI 01-3713-1995, total padatan minimum pada es krim adalah 34%. 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. Analisa data (ANOVA) nilai total padatan dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

4.2.2.3 Daya Leleh

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



Gambar 10. Daya leleh es krim cokelat probiotik

Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa es krim cokelat dengan perlakuan K4 memiliki daya leleh paling baik dengan nilai 12,75 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. Analisa data (ANOVA) nilai daya leleh dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

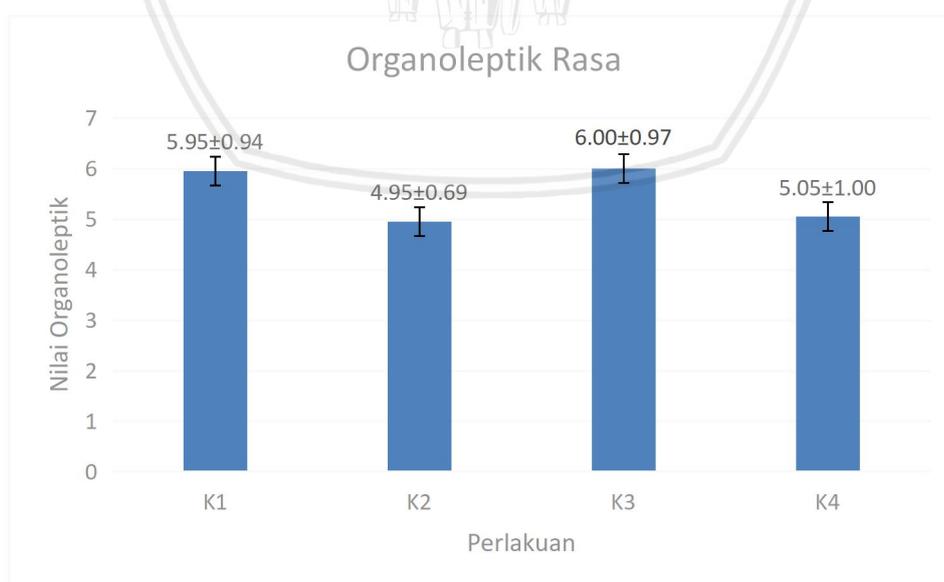
4.2.3 Analisis Organoleptik Es Krim Cokelat Probiotik

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

4.2.3.1 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 cokelat bermikrokapsul dapat dilihat pada

Gambar 11.



Gambar 11. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *L. acidophilus* terhadap Rasa

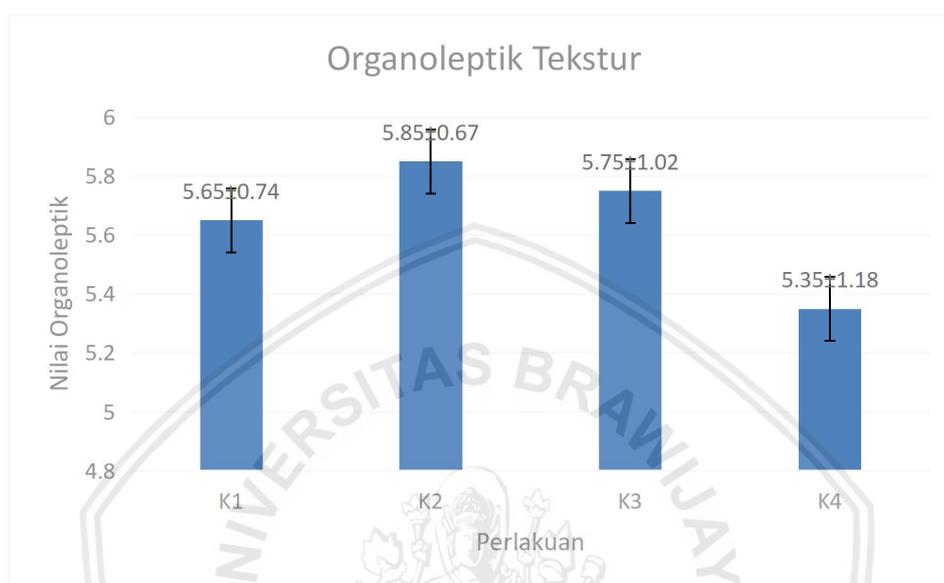
Berdasarkan uji Kruskal-Wallis, didapat bahwa penambahan mikrokapsul ke dalam es krim coklat dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh tidak berbeda nyata (Asymp. Sig. > 0,05) terhadap rasa es krim coklat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter rasa es krim coklat berprobiotik yaitu 5,95 sampai 6,00 dari rentang 1 sampai 7 yang berarti panelis agak suka hingga suka dengan rasa es krim coklat mikrokapsul dari semua perlakuan. Rerata tertinggi kesukaan konsumen yaitu pada es krim coklat K3 yaitu sebesar 6,00, sedangkan rerata terendah pada es krim coklat K2 yakni sebesar 4,95 (agak disukai). Hal ini memperlihatkan bahwa atribut rasa dari es krim coklat probiotik secara umum dapat diterima oleh panelis. Diduga menggunakan komposisi es krim coklat 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).

Mikrokapsul *L. acidophilus* mempunyai rasa asin yang tidak disukai konsumen, sehingga aplikasi ke dalam es krim coklat merupakan solusi tepat agar mikrokapsul 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 tingkat kesukaan rasanya tertinggi, karena tidak terdeteksinya rasa asin mikrokapsul. Analisis sidik ragam organoleptik rasa dapat dilihat pada **Lampiran 13**.

4.2.3.2 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 panelis terhadap parameter tekstur dari es krim coklat bermikrokapsul dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *L. acidophilus* terhadap Tekstur

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 5,35 sampai 5,85 dari rentang 1 sampai 7 yang berarti panelis agak suka dengan tekstur es krim coklat mikrokapsul dari semua perlakuan. Rerata tertinggi kesukaan konsumen yaitu pada es krim coklat K2 yaitu sebesar 5,85 (agak menyukai), sedangkan rerata terendah pada es krim coklat K4 yakni sebesar 5,35 yang berarti agak disukai panelis. Namun secara umum seluruh perlakuan memiliki tingkat kesukaan tekstur yang tidak berbeda nyata oleh semua panelis. Analisis sidik ragam parameter tekstur dapat dilihat di lampiran.

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 43,22 μm (di bawah 100 μm) sehingga terhindar dari sensasi berpasir atau tidak nyaman di mulut. Selain itu, penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi sama (κ 4% dan maltodekstrin 5%) 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.

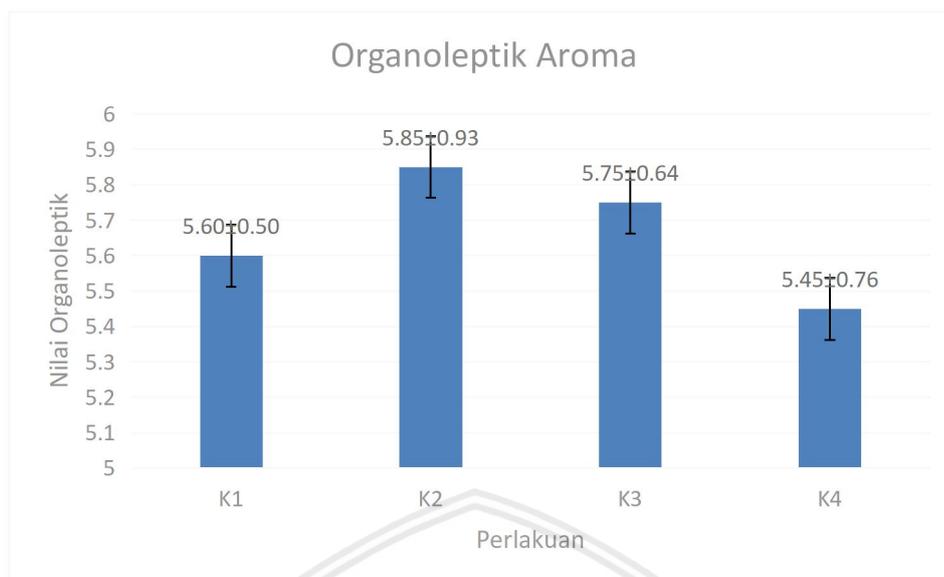
Maltodekstrin ikut berperan dalam menentukan tekstur akhir dari es krim coklat. Penambahan mikrokapsul ke dalam es krim coklat yang semakin meningkat konsentrasinya menyebabkan kadar maltodekstrin pada mikrokapsul juga ikut meningkat, sehingga pada penambahan mikrokapsul 10% (K4) ke dalam es krim coklat menyebabkan teksturnya yang lebih keras dan paling kurang disukai panelis. Mikrokapsul *L. acidophilus* bertekstur khas es krim dan disukai konsumen. Hal ini diduga karena kedua bahan penyalut yang bekerja sinergis membentuk lapisan yang kokoh dan kuat menyelimuti *L. acidophilus* 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). Analisis sidik ragam organoleptik tekstur dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

4.2.3.3 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 bermikrokapsul dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *L. acidophilus* terhadap Aroma

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 aroma es krim coklat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter aroma es krim coklat probiotik yaitu 5,45 sampai 5,85 (agak suka) dari rentang 1 sampai 7. Rerata tertinggi kesukaan konsumen yaitu pada es krim coklat K2 yaitu sebesar 5,85 (agak menyukai), sedangkan rerata terendah pada es krim coklat K4 yakni sebesar 5,45 yang berarti agak disukai panelis. Secara umum seluruh perlakuan memiliki tingkat kesukaan aroma yang sama yaitu agak disukai panelis.

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

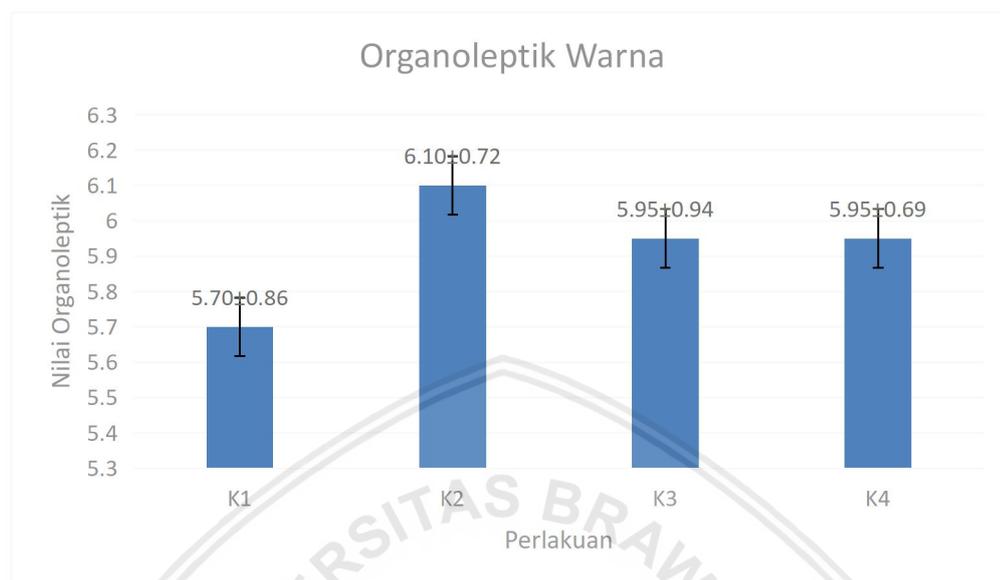
senyawa pyrazines serta komponen-komponen volatil yang dapat menimbulkan flavour pada produk olahan cokelat (Fakhmi *et al.*, 2015).

Penambahan mikrokapsul hingga 10% memiliki rerata terendah yakni 5,45 (agak suka), diduga karena penambahan mikrokapsul 10% dapat merubah karakteristik aroma es krim cokelat yang mengakibatkan aroma khas produk sedikit berkurang. Mikrokapsul *L. acidophilus* 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 cokelat dinilai tepat karena aroma asam mikrokapsul dapat tersamarkan oleh aroma kakao dari cokelat. Selaras dengan penelitian sejenis, rerata panelis merespon penilaian terhadap produk es krim cokelat dengan respon agak suka terhadap aroma es krim cokelat 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). Analisis sidik ragam parameter aroma dapat dilihat di lampiran. Analisis sidik ragam organoleptik aroma dapat dilihat pada **Lampiran 15**.

4.2.3.4 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 cokelat, sebelum faktor-faktor lain dipertimbangkan secara visual, warna menjadi penentu daya tarik atau bahkan penolakan (Wahyudi dan Misnawi, 2008). Nilai rata-rata panelis terhadap

parameter aroma dari es krim coklat bermikrokapsul dapat dilihat pada **Gambar 14**.



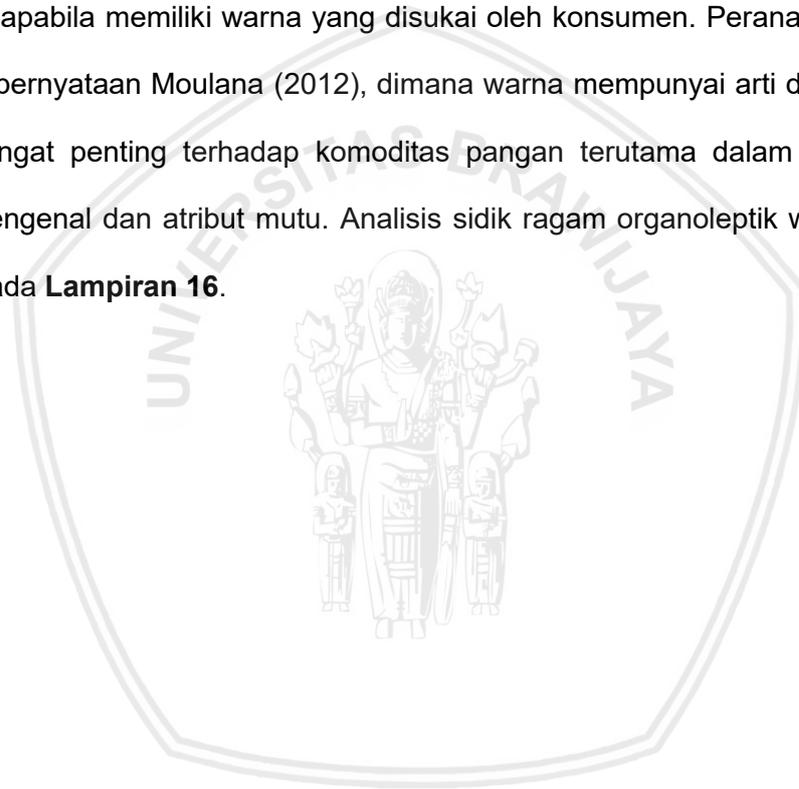
Gambar 14. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *L. acidophilus* terhadap Warna

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 warna es krim coklat. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap parameter warna es krim coklat berprobiotik yaitu 5,70 sampai 6,10 (suka) dari rentang 1-7. Rerata tertinggi kesukaan konsumen yaitu pada es krim coklat K2 yakni sebesar 6,10 (agak suka-suka), sedangkan rerata terendah pada es krim coklat K1 yakni sebesar 5,70 yang berarti agak disukai panelis. Analisis sidik ragam parameter warna dapat dilihat di lampiran.

Warna yang dihasilkan dari seluruh perlakuan es krim coklat cenderung sama yaitu coklat gelap dan mengkilap sesuai karakter es krim coklat 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 coklat. Data penelitian terhadap organoleptik warna es krim coklat 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 kappa 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. Analisis sidik ragam organoleptik warna dapat dilihat pada **Lampiran 16**.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* pada es krim coklat berpengaruh nyata terhadap viabilitas *L. acidophilus*. Viabilitas terbaik pada es krim coklat K4 sebesar 6,81 log cfu/mL yang menghasilkan viabilitas sesuai standar FAO yakni 6-7 log cfu/mL.

Berdasarkan analisis kualitas es krim coklat, penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* pada es krim coklat tidak berpengaruh terhadap nilai *overrun* es krim coklat. Nilai *overrun* terbaik pada es krim coklat K1 yaitu 22,82% namun belum mencapai standar nilai *overrun* yang berkisar antara 28-30%.

Penambahan mikrokapsul *L. acidophilus* pada es krim coklat berpengaruh nyata terhadap nilai total padatan dan daya leleh es krim coklat. Total padatan tertinggi pada es krim coklat K4 yaitu 37,49% dan sudah mencapai standar total padatan yang berkisar antara 24-40%. Sedangkan daya leleh terbaik pada es krim coklat K4 yaitu 12,75 menit dan sudah mencapai standar daya leleh yang berkisar antara 10-15 menit.

Tingkat kesukaan panelis terhadap nilai organoleptik es krim coklat berprobiotik paling tinggi terhadap es krim coklat probiotik pada perlakuan K2 (penambahan mikrokapsul 2%).

5.2 Saran

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai *overrun* es krim coklat probiotik dinilai masih rendah dan belum mencapai standar nilai *overrun* yang baik pada produk es krim sehingga pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan peracikan mengenai formulasi es krim probiotik yang cocok untuk mendapatkan karakteristik es krim yang lebih baik dan memenuhi standar.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, S. dan H. Lukman. 2011. Karakteristik Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Beberapa Starter Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi Dari Dadih Asal Kabupaten Kerinci. Jambi: Fakultas Peternakan Universitas Jambi.
- Afrianto, Eddy dan Evi Liviawaty. 2005. *Pakan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Anurogo, D. 2014. Probiotik: Problematika dan Progresivitasnya. *Medicinus*, **27**(3): 46–57.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- 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. 1992. SNI No 01-2593-1992. Dekstrin untuk Industri Pangan. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- 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.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S., & Webb, C. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, **79**, 131-141.
- 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". TheAVI 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.
- 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.
- Fasikhatur, T. 2010. Pengaruh Konsentrasi Maltodekstrin dan Gum Arab terhadap Karakteristik Mikroenkapsulat 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 Hydrocolloid Vol. 11. Florida: Crc Press Inc Boca Raton.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 163 hal.
- Hakim, N., Nyakpa, M.Y., Lubis, A.M., Nugroho, S.G., Diha, M.A., Hong, G.B. dan Bailey, H.H. 1986. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Universitas Lampung. Lampung. 488 hal.
- Hanafiah, K. A. 2009. Rancangan Percobaan: Teori & Aplikasi. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Harismah, K., Hidayati, N., Latifah, A.T.W., & Fuadi, A.M. 2015. Uji Antioksidan Agar-Agar Ubi Jalar Kuning Aroma Cinnamon dan Pemanis Alami Non Kalori Stevia (*Stevia rebaudiana*). *The 3rd Universty Research Colloquium*, 570-584.
- 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.
- Hernawati. 2011. Sistem Renin-Angiotensin-Aldosteron: Perannya dalam pengaturan tekanan darah dan hipertensi. Direktori file UPI: http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOLOGI/197003311997022-HERNAWATI/FILE_6.pdf
- Hidayat. (2011). Metode Penelitian Kebidanan Dan Teknik Analisis Data. Jakarta; Salemba Medica.
- 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.
- Imeson A.C. 1973. Solute variations in small catchment streams. *Trans. Inst.Br.Geog.* **60**, 87-100.
- Ismarani. 2012. *Potensi Senyawa Tanin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan*. CEFARS : Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah Vol. 3 No. 2 Juni 2012.
- Istini, S., dan Suhaimi. 1998. Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut. Lembaga Oseanologi Nasional. Jakarta.
- Kanbe, M. 1992. *Traditional Fermented Milks of The World*. In: Nazakawa, Y., and A. Hosono (ed.). *Function of Fermented Milks : Challenge for the Health Science*. Elsevier SciencePublisher.
- 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.
- Kurozawa, L. E., Morassi, A. G., Vanzo, A. A., Park, K. J. and Hubinger, M. D., Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder. *Drying Technology*, **27**, 1248-1257 (2009).
- 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.
- Lin, C.C., S. Y. Lin, dan L. S. Hwang. 1995. Microencapsulation of Squid Oil with Hydrophilic Macromolecules for Oxidative and Thermal Stabilization. *J. Of Food Sci.* **6** (1): 36-39.
- 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.
- Manojlovic, V., V. A. Nedovic., K. Kasipathy., dan N. J. Zuidam. 2010. Encaptulation 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).

- Moulana, Ryan. 2012. "Efektifitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)". *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia Vol. 4 No. 3*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala.
- 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.
- Nugrahani, P.N. 2014. Latihan Jalan Tandem Lebih Baik Daripada Latihan Dengan Menggunakan Swiss Ball Terhadap Peningkatan Keseimbangan Untuk Mengurangi Resiko Jatuh Pada Lanjut Usia (LANSIA). *Jurnal Fisioterapi*, Volume 14, Nomor 2, Oktober 2014.
- Pacifico, C. J. 2001. Sensitive Substance Encapsulation. United States Patent. Amerika.
- Padaga, Masdiana dan Manik Eirry Sawitri. 2005. *Membuat Es Krim yang Sehat*. Surabaya L 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.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta. UI Press.
- 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., Nociantiri, K. A., dan Duniaji, A. S. 2002. Viabilitas *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dalam Berbagai Jenis Enkapsulan dan Suhu Penyajian. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Udayana*, 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.

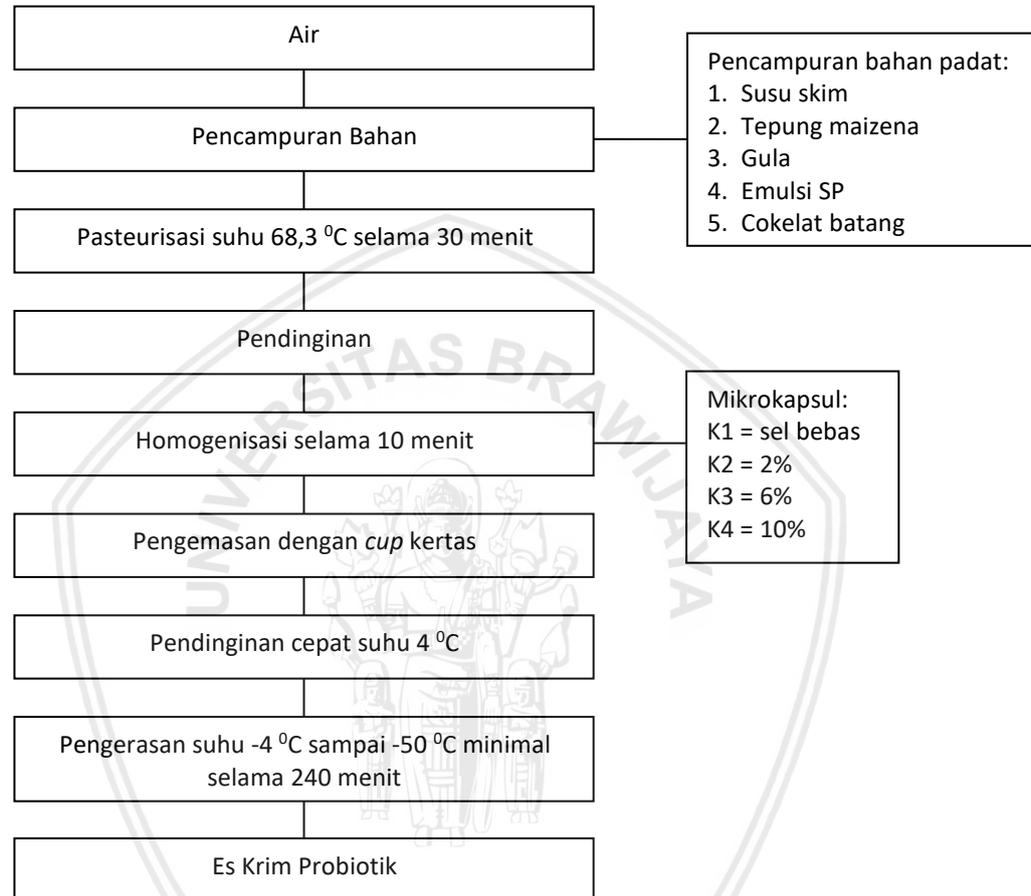
- Pradikaningrum, Henny. 2015. Uji Viabilitas Mikroenkapsulasi *Lactobacillus casei* Menggunakan Matrik Kitosan. *Skripsi*. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Prisco, A., dan Mauriello, G. 2016. Probiotication of foods: a focus on microencapsulation tool. *Trends Food Sci. Technol.* 48, 27-39.
- 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 Afifah, Novita I., M. Hendra S. G. 2015. Pengaruh Berat Pati dan Volume Plasticizer Gliserol Terhadap Karakteristik Film Bioplastik Pati Kentang. *Jurnal Teknik Kimia*, 4(3): 1-5.
- Rahayu, Winarti P dan Siti Nurosiyah. 2008. Evaluasi Sensori. Jakarta (ID).
- Rajam, R. dan C. Anandharamakrishnan. 2015. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT - Food Science and Technology* 60(2): 773-780.
- Ranadheera, RDCS., Baines, SK., Adams, MC. 2010. Importance of food in probiotic efficacy. *Food Res Int.* 43:1-7.
- Rifani, A. N., Ma'arif, 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.
- Risch, S. J., & Reineccius, G. A. 1995. *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. Washington, D.C.: ACS Symposium Series 590.
- Riyansari, S. 2009. Pembuatan Permen Chewy Bungkil Kacang Tanah (Kajian Proporsi Sirup Glukosa : Sorbitol dan Konsentrasi Gelatin). *Skripsi*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Rahmadhani, Rosalia dan Fibrianto, Kiki. 2016. Proses Penyiapan Mahasiswa Sebagai Panelis Terlatih dalam Pengembangan Lexicon (Bahasa Sensori) Susu Skim UHT dan Susu Kaya Lemak UHT. In Press Januari 2016.
- 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., 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.
- Setijawati, D., Wijana, S., Aulani'am., dan Santosa, I. 2012. Penggunaan Caragenan dengan Metode Proses Berbeda (SRC dan RC) sebagai Bahan Pengenkapsulan *Lactobacillus acidophilus* terhadap Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul Secara In Vitro. *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1): 1-12.

- Setyanto. 2015. Memperkenalkan kembali metode eksperimen dalam kajian komunikasi. *Jurnal Ilmu Komunikasi*, **3**(1): 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).
- 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.
- 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.
- SNI 01-3713-1995. Es Krim. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Snydman, D. 2008. The Safety of Probiotics. *Clinical Infectious Diseases*: (46): S104–11.
- 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., Haryono, B., 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.
- Suryono., Sudono, A., Sudarwanto, M., dan Apriyantono, A. 2005. Studi Pengaruh Penggunaan *Bifidobacteria* terhadap Flavor Yoghurt. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **16**(1).
- Susanti, U. 2005. Isolasi dan Uji Potensi Mikroorganisme Selulolitik Dalam Dekomposisi Sisa Tanaman Tembakau Deli PTPN II Kebun Sampali. *Skripsi*. USU e-Repository. Medan.
- Susilawati, S. dan Sartika, D. 2017. Produksi Es Krim Susu Kambing dengan Modifikasi Tepung Umbi Suweg (*Amorphophallus Campanulatus* B) Sebagai Penstabil Terhadap Sifat Fisik, Kimia Dan Organoleptik Es Krim. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, **1**(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.

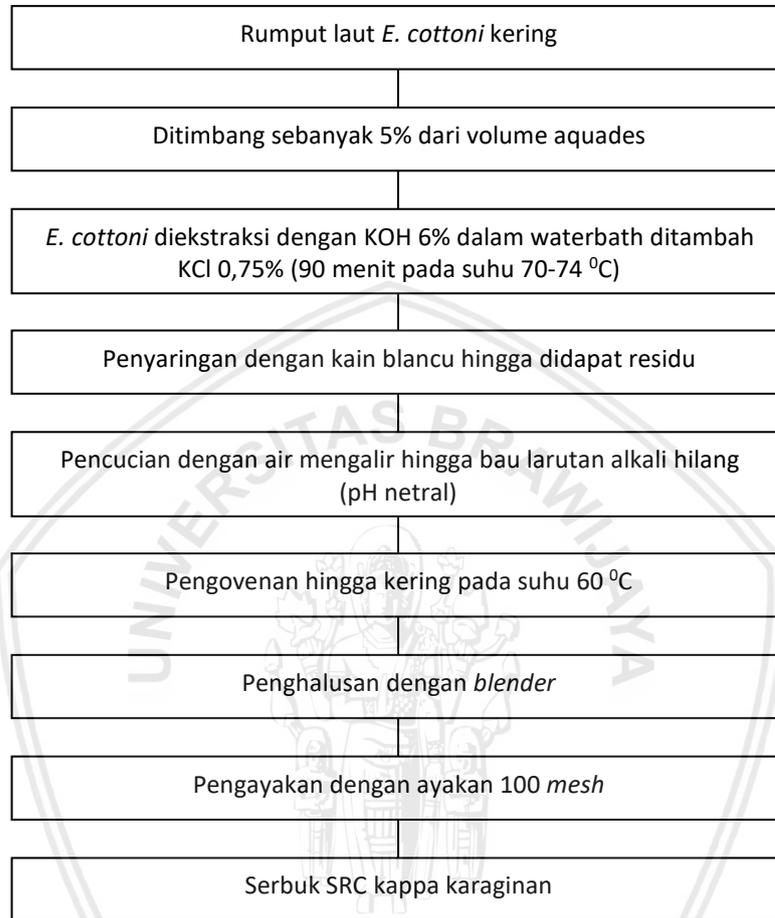
- Tanaka, K., Tsukahara, T., Yanagi, S. N. T., dan Furukawa, H. T. O. 2016. *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 Simultaneously Enhances Systemic and Mucosal Humoral Immunity in Low Birth Weight Infants: A Non-Randomized Study. *Nutrients*, **9**(5): 4–7.
- Tenney, D. 1996. *Acidophilus*. Woodland Publishing. Pleasant Grove.
- Triana, E., dan N. Nurhidayat. 2006. Seleksi dan Identifikasi *Lactobacillus* Kandidat Probiotik Penurun Kolesterol Berdasarkan Analisis Sekuen 16s RNA. *Biota*, **12**: 55-60.
- 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.
- Tripathi, M.K., Giri, S.K., 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, (9) : 225-241.
- Utami, Prapti. 2013. Umbi Ajaib Tumpas Penyakit Kanker, Diabetes, Hipertensi, Stroke, Kolesterol, dan Jantung. Jakarta : PT.Gramedia Pustaka Utama.
- Wahyudi, T., Panggabean, T.R., dan Pujiyanto. 2008. Panduan Lengkap Kakao 13. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Winarno, FG. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta.
- 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.
- Xiaodong, Du, Cindy, L. Yu, dan Dermot, J. Hayes. 2009. Speculation and Volatility Spillover in the Crude Oil and Agricultural Commodity Markets: A Bayesian Analysis. *CARD Working Papers*. 531.

LAMPIRAN

Lampiran 1. *Flow Chart* Pembuatan Es Krim Cokelat (Masykuri dan Ardila, 2012)

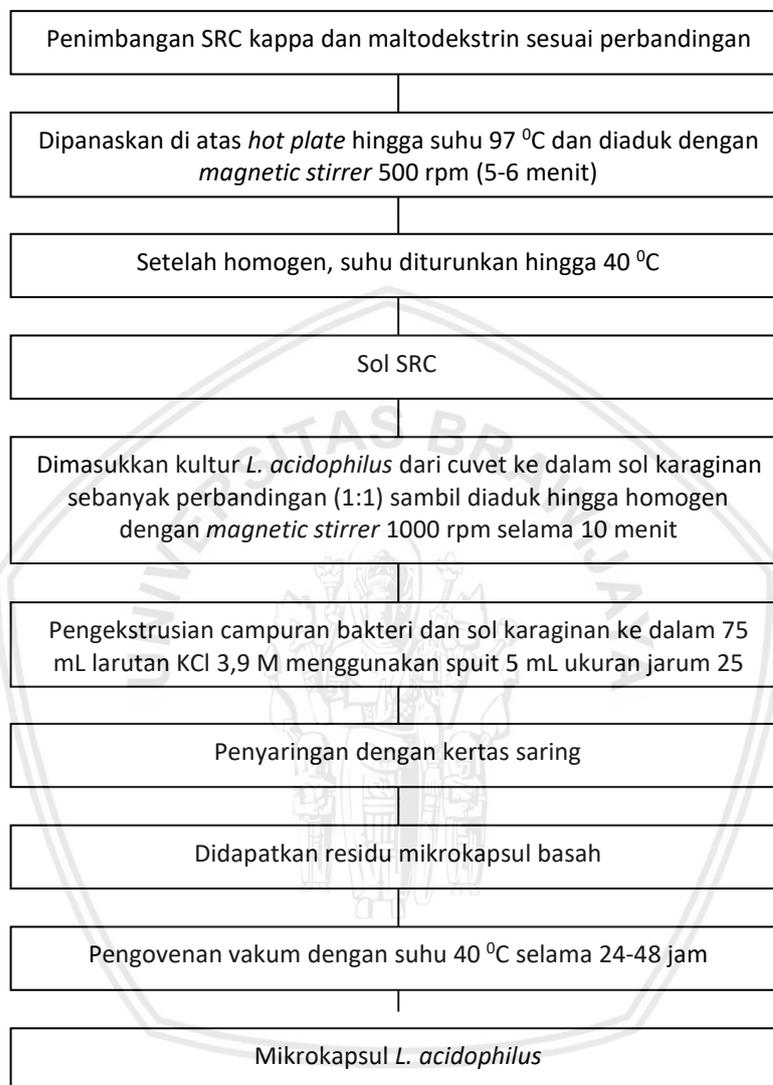


Lampiran 2. Flow Chart Pembuatan Semi Refined Carrageenan (SRC) Kappa
 (Setijawati *et al.*, termodifikasi, 2012)

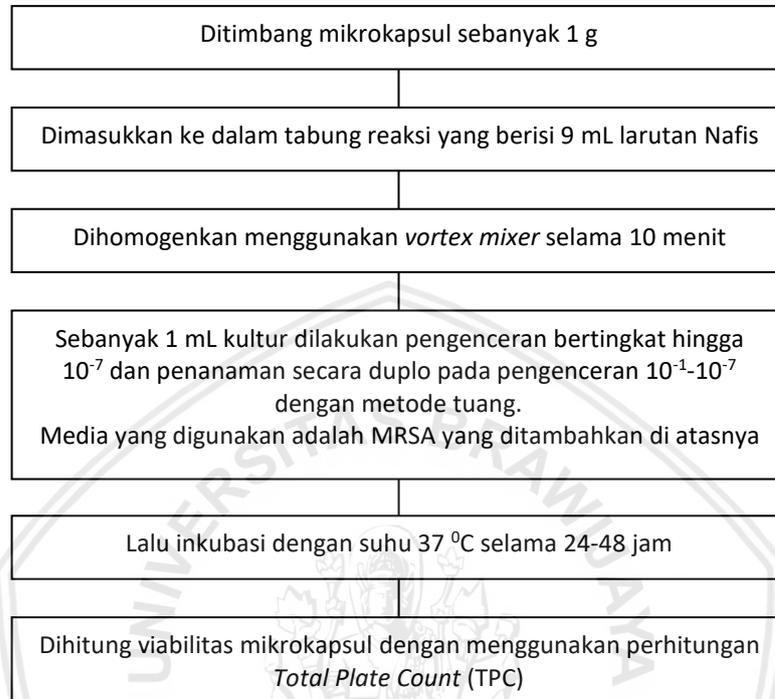


Lampiran 3. Flow Chart Pembuatan Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*

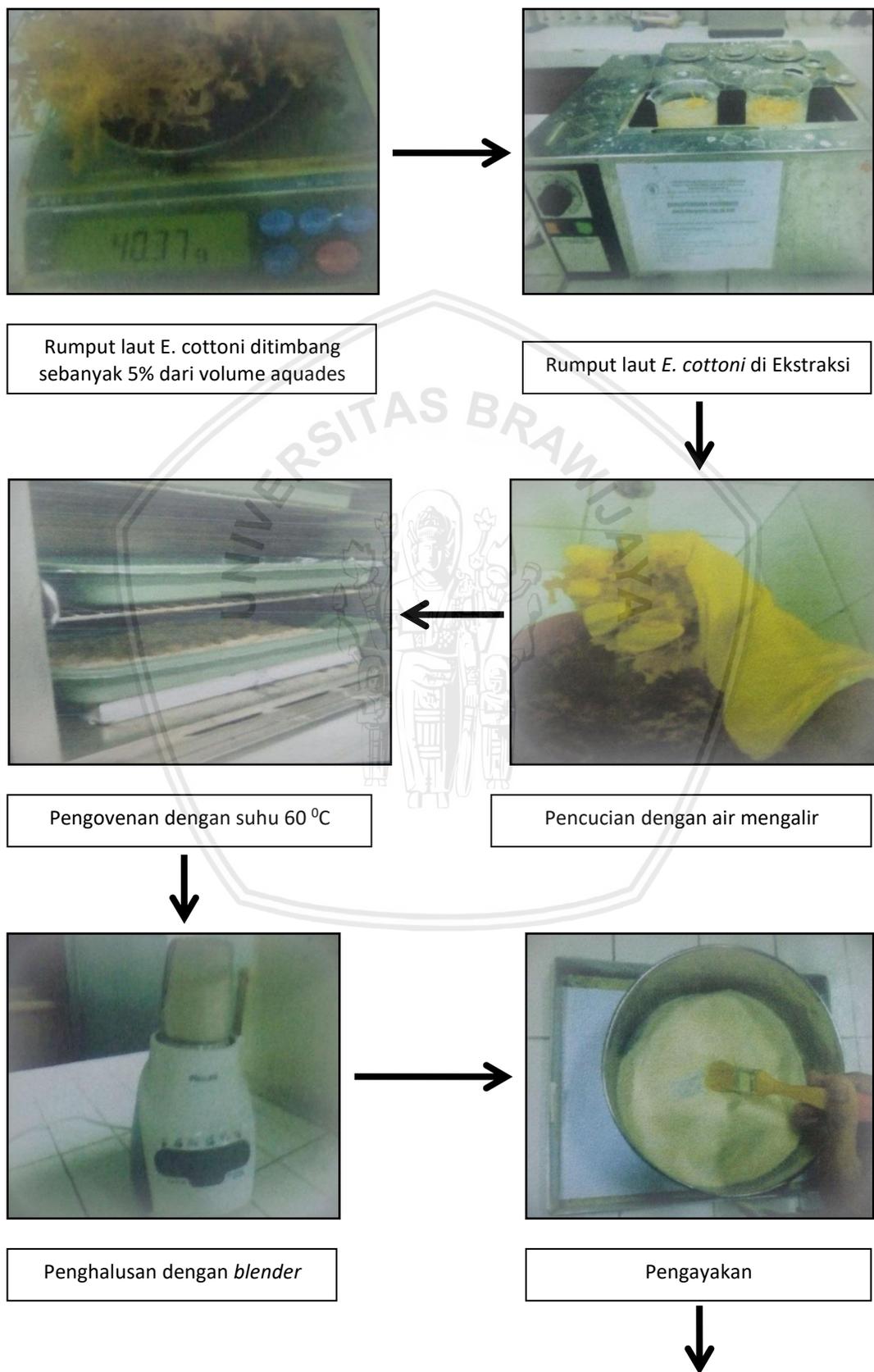
(Manojlovic *et al.*, 2010 dan Setijawati *et al.*, 2012)



Lampiran 4. Flow Chart Pengujian Viabilitas Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* (Chavarri et al., modifikasi, 2010)



Lampiran 5. Dokumentasi Pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Kappa

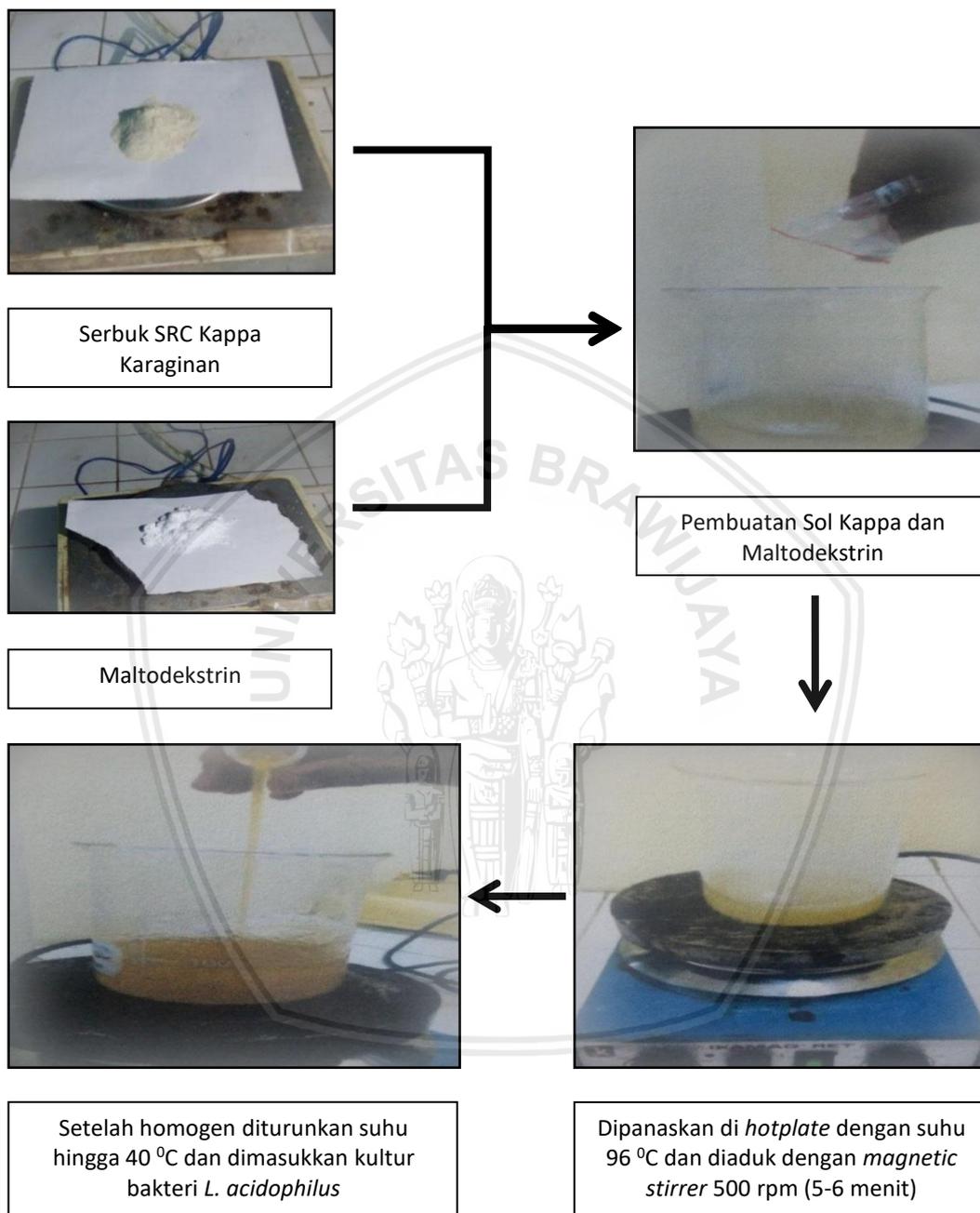


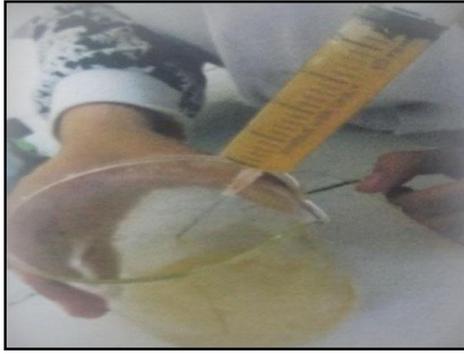


Serbuk SRC Kappa Karaginan



Lampiran 6. Dokumentasi Pembuatan Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*





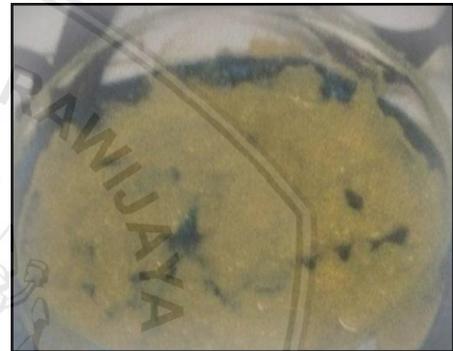
Pengekstrusian dalam KCl 3,9 M



Penyaringan dengan kertas saring



Pengovenan vakum suhu 40 °C



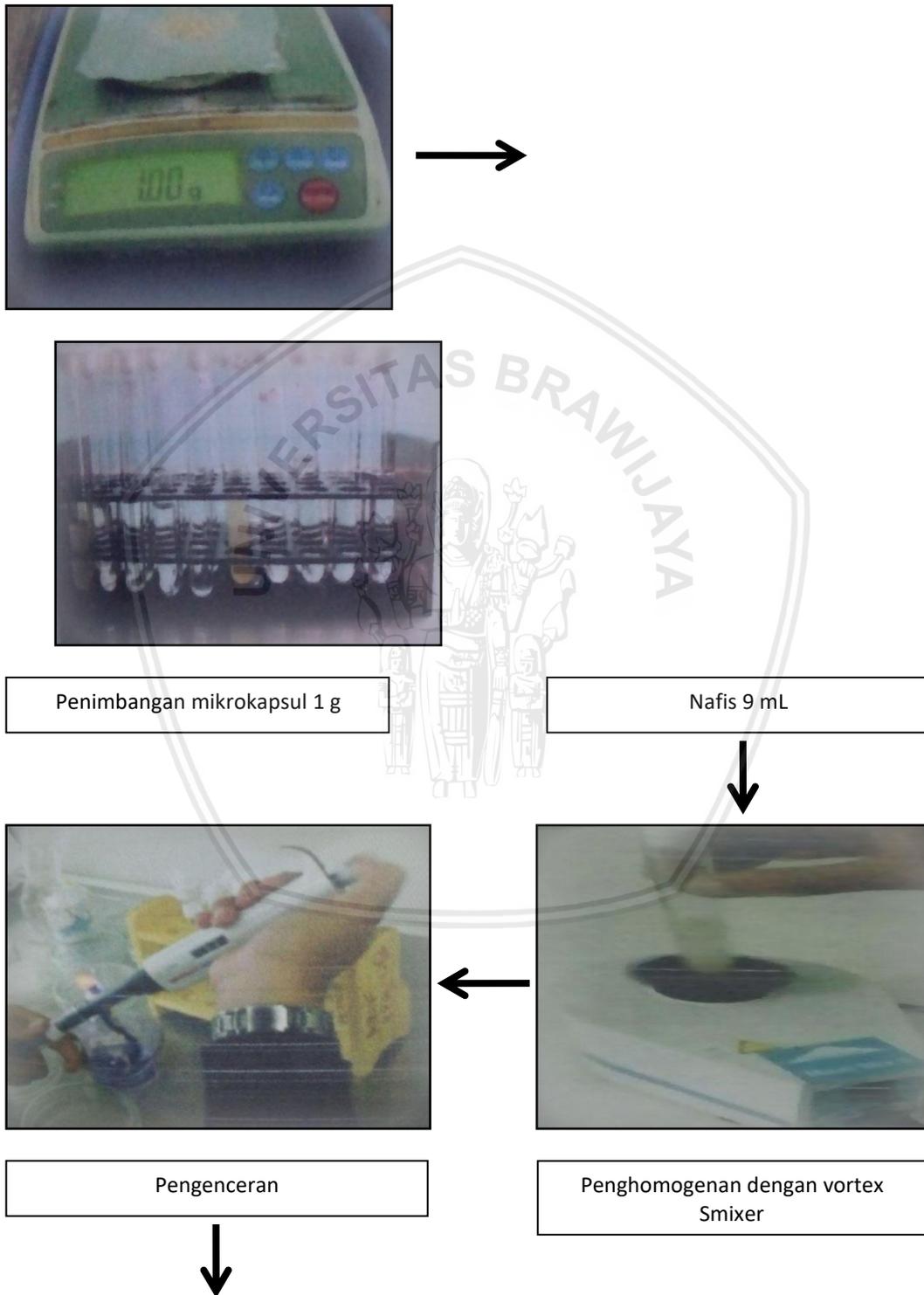
Residu mikrokapsul basah



Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*



Lampiran 7. Dokumentasi Pengujian Viabilitas Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*

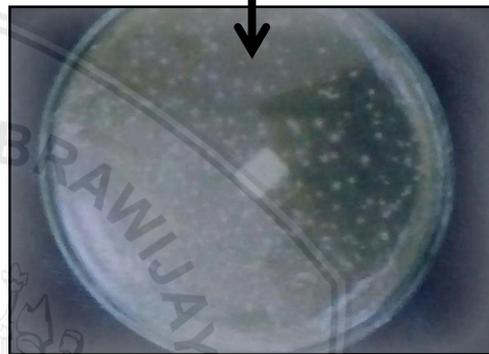




Inkubasi suhu 37 °C selama 24-48 jam



Penanaman



Hasil pengamatan dan dilakukan perhitungan TPC



Lampiran 8. Dokumentasi Pembuatan Es krim Cokelat



Persiapan bahan

Pencampuran bahan dan pasteurisasi



Proses pendinginan



Proses pencampuran





Homogenisasi dan penambahan mikrokapsul



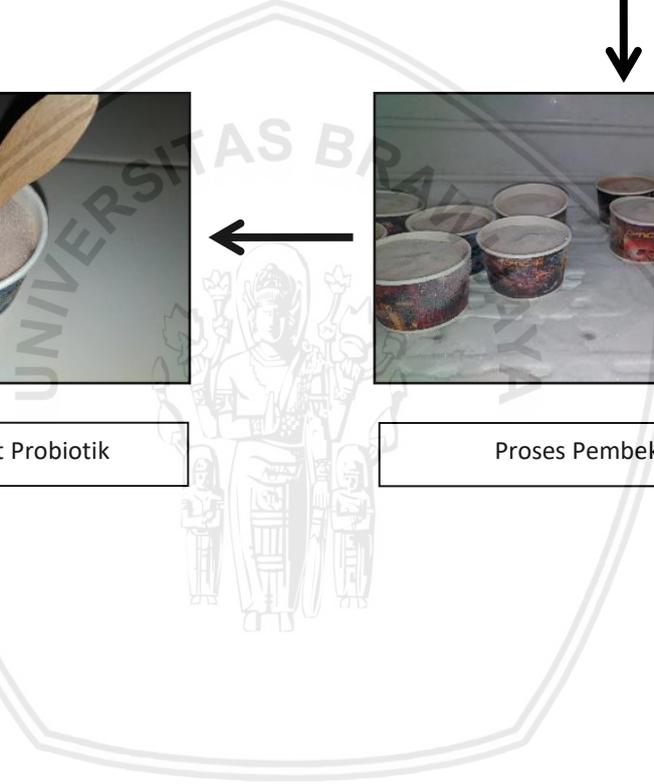
Proses pengemasan dengan cup kertas



Es Krim Cokelat Probiotik



Proses Pembekuan



Lampiran 9. Analisa Data (ANOVA) Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Data Hasil Analisis Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Kappa	Ulangan	Perlakuan				Total
		K1	K2	K3	K4	
4%	1	3,14	4,58	5,79	6,62	
	2	3,15	4,70	5,75	6,84	
	3	3,02	4,52	5,85	7,03	
	4	3,37	4,64	5,83	6,86	
	5	3,19	4,65	5,79	6,72	
	6	3,35	4,62	5,80	6,81	
Jumlah		19,22	27,71	34,81	40,88	122,62
Rerata		3,203	4,618	5,802	6,813	

ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nilai

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	43.541 ^a	3	14.514	1374.188	.000
Intercept	626.486	1	626.486	59316.965	.000
Perlakuan	43.541	3	14.514	1374.188	.000
Error	.211	20	.011		
Total	670.238	24			
Corrected Total	43.752	23			

a. R Squared = .995 (Adjusted R Squared = .994)

Keterangan:

F hitung (=1374,188) > F5% (=3,10), sehingga disimpulkan bahwa penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda ke dalam es krim coklat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap viabilitas *L. acidophilus*. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjutan.

Uji Lanjutan dan Pemberian Notasi:

		Nilai					
		N	Subset				Notasi
Perlakuan			1	2	3	4	
Tukey HSD ^{a,b}	K1	6	3.2033				a
	K2	6		4.6183			b
	K3	6			5.8017		c
	K4	6				6.8133	d
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000
Duncan ^{a,b}	K1	6	3.2033				a
	K2	6		4.6183			b
	K3	6			5.8017		c
	K4	6				6.8133	d
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .011.

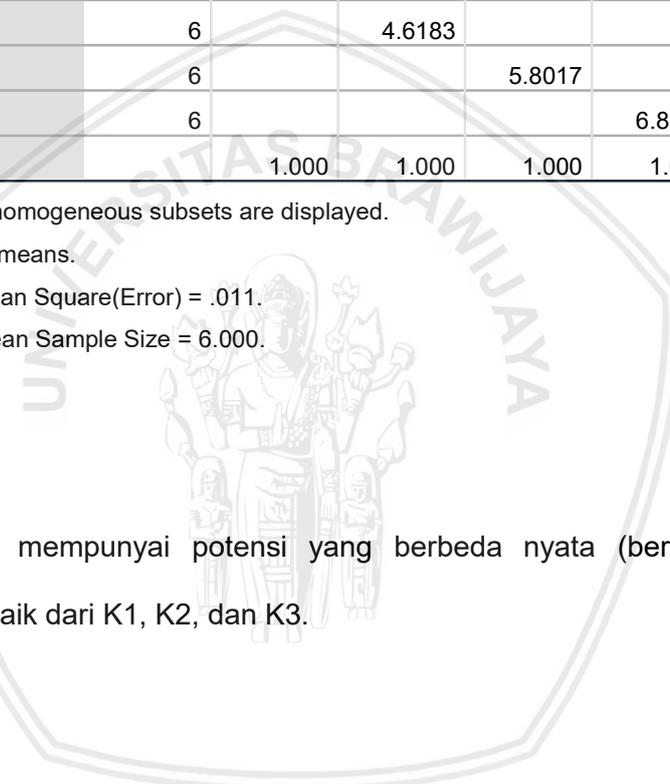
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Kesimpulan:

Setiap perlakuan mempunyai potensi yang berbeda nyata (berbeda-beda).

Potensi K4 lebih baik dari K1, K2, dan K3.



Lampiran 10. Analisa Data (ANOVA) *Overrun*

Data Hasil Analisis *Overrun*

Kappa	Ulangan	Perlakuan				Total
		K1	K2	K3	K4	
4%	1	22,85	19,72	18,61	17,85	
	2	22,72	19,28	18,61	17,57	
	3	22,92	20,26	19,14	17,43	
	4	22,83	19,73	18,21	18,30	
	5	22,78	19,34	18,32	17,78	
	6	22,82	19,66	18,57	17,78	
Jumlah		136,92	117,99	111,46	106,71	473,08
Rerata		22,820	19,665	18,577	17,785	

ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nilai

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	87.985 ^a	3	29.328	366.734	.000
Intercept	9325.195	1	9325.195	116606.239	.000
Perlakuan	87.985	3	29.328	366.734	.000
Error	1.599	20	.080		
Total	9414.780	24			
Corrected Total	89.585	23			

a. R Squared = .982 (Adjusted R Squared = .979)

Keterangan:

F hitung (=366,734) > F5% (=3,10), 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.

Uji Lanjutan dan Pemberian Notasi:

		Nilai					
		N	Subset				Notasi
Perlakuan			1	2	3	4	
Tukey HSD ^{a,b}	K4	6	17.7850				a
	K3	6		18.5767			b
	K2	6			19.6650		c
	K1	6				22.8200	d
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000
Duncan ^{a,b}	K4	6	17.7850				a
	K3	6		18.5767			b
	K2	6			19.6650		c
	K1	6				22.8200	d
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .080.

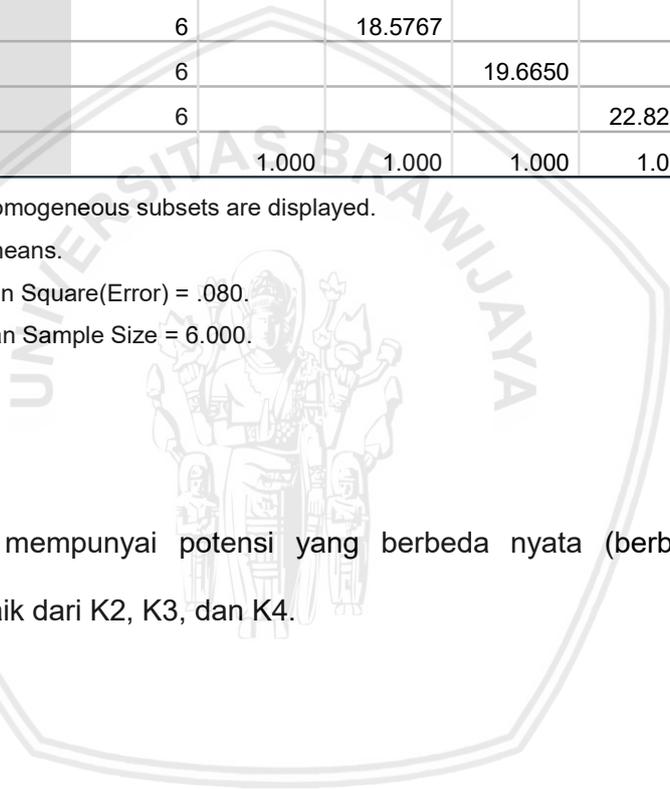
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Kesimpulan:

Setiap perlakuan mempunyai potensi yang berbeda nyata (berbeda-beda).

Potensi K1 lebih baik dari K2, K3, dan K4.



Lampiran 11. Analisa Data (ANOVA) Total Padatan

Data Hasil Analisis Total Padatan

Kappa	Ulangan	Perlakuan				Total
		K1	K2	K3	K4	
4%	1	33,68	34,43	37,18	38,79	
	2	34,19	36,02	37,05	38,82	
	3	33,76	34,41	36,38	37,49	
	4	30,13	32,10	33,33	35,83	
	5	31,39	32,21	33,58	36,55	
	6	32,63	33,83	35,50	37,49	
Jumlah		195,78	203	213,02	224,97	836,77
Rerata		32,630	33,833	35,503	37,495	

ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nilai

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	80.304 ^a	3	26.768	11.843	.000
Intercept	29174.335	1	29174.335	12908.193	.000
Perlakuan	80.304	3	26.768	11.843	.000
Error	45.203	20	2.260		
Total	29299.841	24			
Corrected Total	125.506	23			

a. R Squared = .640 (Adjusted R Squared = .586)

Keterangan:

F hitung (=11,843) > F5% (=3,10), 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.

Uji Lanjutan dan Pemberian Notasi:

		Nilai				
		N	Subset			Notasi
Perlakuan	1		2	3		
Tukey HSD ^{a,b}	K1	6	32.6300			a
	K2	6	33.8333	33.8333		ab
	K3	6		35.5033	35.5033	bc
	K4	6			37.4950	c
	Sig.		.522	.250	.133	
Duncan ^{a,b}	K1	6	32.6300			a
	K2	6	33.8333	33.8333		ab
	K3	6		35.5033		b
	K4	6			37.4950	c
	Sig.		.181	.069	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.260.

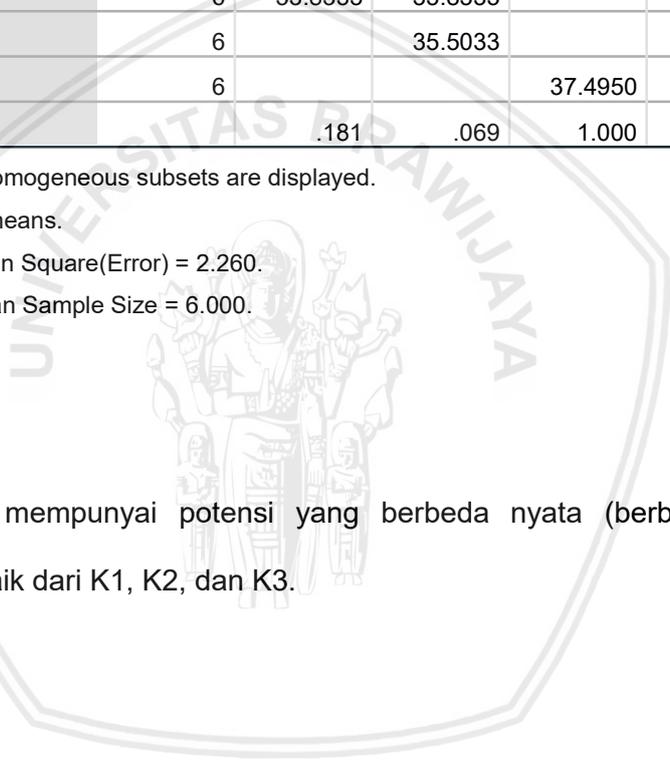
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Kesimpulan:

Setiap perlakuan mempunyai potensi yang berbeda nyata (berbeda-beda).

Potensi K4 lebih baik dari K1, K2, dan K3.



Lampiran 12. Analisa Data (ANOVA) Daya Leleh

Data Hasil Analisis Daya Leleh

Kappa	Ulangan	Perlakuan				Total
		K1	K2	K3	K4	
4%	1	17,45	16,02	14,55	13,15	
	2	16,59	16,58	14,54	12,52	
	3	17,27	16,14	15,13	12,51	
	4	17,28	15,57	15,34	13,35	
	5	17,30	16,56	14,07	12,50	
	6	17,17	16,17	14,53	12,49	
Jumlah		103,06	97,04	88,16	76,52	364,78
Rerata		17,177	16,173	14,693	12,753	

ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nilai

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	66.585 ^a	3	22.195	148.673	.000
Intercept	5544.352	1	5544.352	37138.963	.000
Perlakuan	66.585	3	22.195	148.673	.000
Error	2.986	20	.149		
Total	5613.923	24			
Corrected Total	69.571	23			

a. R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .951)

Keterangan:

F hitung (=148,673) > F5% (=3,10), 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.

Uji Lanjutan dan Pemberian Notasi:

		Nilai					
			Subset				
Perlakuan	N	1	2	3	4	Notasi	
Tukey HSD ^{a,b}	K4	6	12.7533			a	
	K3	6		14.6933		b	
	K2	6			16.1733	c	
	K1	6				17.1767	d
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	
Duncan ^{a,b}	K4	6	12.7533			a	
	K3	6		14.6933		b	
	K2	6			16.1733	c	
	K1	6				17.1767	d
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .149.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Kesimpulan:

Setiap perlakuan mempunyai potensi yang berbeda nyata (berbeda-beda).

Potensi K1 lebih baik dari K2, K3, dan K4.



Lampiran 13. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Rasa

Data Hasil Analisis Organoleptik Rasa

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	7	6	7	6
2	7	4	7	5
3	6	4	6	4
4	6	4	6	4
5	7	5	7	5
6	7	5	7	5
7	7	4	6	4
8	7	5	7	5
9	7	4	6	4
10	6	5	7	5
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
Jumlah	119	99	120	101
Rerata	5,95	4,95	6,00	5,05

Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics	Nilai
Kruskal-Wallis H	2,117
df	3
Asymp. Sig.	0,549

Keterangan:

Asymp. Sig. (=0,549) > 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 14. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Tekstur

Data Hasil Analisis Organoleptik Tekstur

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	6	7	6	6
2	5	7	6	7
3	6	5	4	7
4	5	6	5	6
5	5	5	6	7
6	5	6	6	7
7	6	7	6	6
8	5	6	4	5
9	4	6	4	6
10	5	6	5	5
11	6	5	5	3
12	6	5	5	3
13	6	5	6	5
14	5	5	6	4
15	6	6	6	5
16	7	6	7	5
17	6	6	7	5
18	6	6	7	5
19	6	6	7	5
20	7	6	7	5
Jumlah	113	117	115	107
Rerata	5,65	5,85	5,75	5,35

Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics	
	Nilai
Kruskal-Wallis H	2,643
df	3
Asymp. Sig.	0,450

Keterangan:

Asymp. Sig. (=0,450) > 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 15. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Aroma

Data Hasil Analisis Organoleptik Aroma

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	6	5	5	5
2	6	7	6	6
3	5	5	6	5
4	5	7	6	6
5	6	6	7	6
6	5	6	5	5
7	6	4	5	5
8	5	6	5	5
9	5	5	6	5
10	6	6	6	7
11	5	4	5	5
12	5	6	6	6
13	6	5	5	5
14	6	7	6	6
15	6	6	7	5
16	5	6	6	7
17	6	6	6	4
18	6	7	6	6
19	6	6	5	5
20	6	7	6	5
Jumlah	112	117	115	109
Rerata	5,6	5,85	5,75	5,45

Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics	
	Nilai
Kruskal-Wallis H	4,068
df	3
Asymp. Sig.	0,254

Keterangan:

Asymp. Sig. (=0,254) > 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 16. Analisis Sidik Ragam Organoleptik Warna

Data Hasil Analisis Organoleptik Warna

Panelis	K1	K2	K3	K4
1	6	6	7	5
2	4	5	5	6
3	5	6	7	6
4	5	6	4	7
5	7	5	5	6
6	6	7	6	6
7	6	6	7	6
8	6	5	5	6
9	5	6	6	5
10	6	7	6	6
11	7	7	5	5
12	6	6	5	5
13	7	6	7	6
14	6	6	7	7
15	5	6	6	6
16	5	7	7	7
17	7	6	6	6
18	5	7	6	6
19	5	5	7	5
20	5	7	5	7
Jumlah	114	122	119	119
Rerata	5,7	6,1	5,95	5,95

Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics	
	Nilai
Kruskal-Wallis H	2,407
df	3
Asymp. Sig.	0,492

Keterangan:

Asymp. Sig. (=0,492) > 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.