

# KAJIAN VIABILITAS PROBIOTIK DAN EVALUASI SIFAT KIMIA DAN SENSORIK COKELAT PROBIOTIK SELAMA PENYIMPANAN PADA SUHU 20°C

Karenina Palupi, Yusman Taufik, Istiyati Inayah

Magister Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Bandung, 40117, Indonesia

## ABSTRACT

*The purpose of this study was to determine the viability of probiotics and evaluate the chemical and sensory properties of probiotic chocolate during storage at 20°C. The benefit of this study is to conduct research on probiotic viability and evaluation of chemical and sensory properties of probiotic chocolate during storage at 20°C. Product manufacturing using dark couverture chocolate with 75% cocoa content and encapsulated *Lb. plantarum* bacteria was carried out using the spray dryer method and maltodextrin as encapsulant at 20% b/v. The product was stored for 6 days with probiotic viability parameters in the product using the total plate count (TPC) method, moisture content using distillation method, free fatty acid content using Soxhlet method and sensory test using hedonic method. The results showed that during 6 days of storage with a storage temperature of 20°C probiotic viability had a weak correlation, but the water content and fatty acid content had a strong correlation, while the sensory test of color, aroma, taste and texture responses showed a strong correlation with the results not significantly different and the response of 30 panelists to the product showed that the panelists liked the probiotic chocolate product with an average score of 7.*

**Keywords:** Probiotics, Chocolate, Viability, Maltodextrin, Spray drying

## I Pendahuluan

Saat ini kesadaran masyarakat akan kesehatan semakin meningkat, ini tercermin dari peningkatan belanja konsumen terhadap produk pangan yang diyakini memberikan manfaat kesehatan. Pemilihan produk pangan ini tidak hanya sebatas pada makanan utama namun pada makanan ringan atau snack. Produk pangan yang berkaitan dengan kesehatan sering disebut dengan istilah pangan fungsional. Salah satu pangan fungsional yang banyak beredar di masyarakat saat ini adalah produk pangan probiotik yang sebagian diaplikasikan pada produk dairy. Namun karena tingkat kesadaran maupun keinginan konsumen terhadap jenis produk probiotik yang bervariasi meningkat secara signifikan maka mulai dikembangkan produk probiotik berbasis *non-dairy*.

kategori produk probiotik *non-dairy* ini tergolong masih baru, namun mulai banyak diminati karena beberapa alasan, yaitu prevalensi tinggi terhadap *lactose intolerance*, dimana banyak orang yang alergi terhadap produk susu sehingga menghindari mengonsumsi produk olahan susu selain itu tren menjadi vegetarian jadi semakin meningkat. Salah satu produk probiotik *non-dairy* yang mulai banyak dikembangkan adalah cokelat probiotik.

Cokelat probiotik merupakan produk turunan kakao termasuk cokelat batangan, *mousse* dan makanan penutup yang difortifikasi dengan bakteri probiotik. Para peneliti menyatakan cokelat merupakan pembawa probiotik yang efektif, menurut Konar dkk., (2018) cokelat merupakan makanan yang baik untuk menjadi pembawa (*carrier*) bakteri

probiotik ke dalam saluran pencernaan, karena cokelat mampu melindungi bakteri dari kondisi lingkungan sistem pencernaan, termasuk kondisi asam pada lambung dan garam empedu.

*Lactobacillus plantarum* termasuk bakteri probiotik yang memiliki sifat tahan terhadap lingkungan yang asam, *Lb. plantarum* juga membantu mengurangi perut kembung dan membantu penyerapan vitamin dan antioksidan serta menghilangkan komponen beracun dari makanan (Widyaningsih, 2011). Menurut Gadhiya dkk., (2015) Tantangan utama untuk cokelat probiotik seperti halnya produk makanan pembawa probiotik lainnya adalah kesulitan dalam mempertahankan kelangsungan hidup probiotik hingga waktu konsumsi dan kondisi pemrosesan seperti suhu tinggi. Maka untuk menjaga kelangsungan hidup probiotik selama proses produksi hingga dikonsumsi oleh konsumen telah dilakukan beberapa penelitian dan diusulkan mikroenkapsulasi sebagai metode yang sangat baik untuk melindungi probiotik selama pemrosesan, penyimpanan dan *transit gastrointestinal* (Chen dkk., 2017).

Berbagai teknik mikroenkapsulasi telah dilaporkan dalam literatur, teknik yang umum digunakan dalam industri makanan melibatkan pengeringan semprot, penguapan pelarut, penguapan cairan superkritis dan suspensi udara dan pengeringan beku (Hossain dkk., 2022). Pengeringan semprot atau spray drying banyak digunakan di industri karena selain biayanya lebih murah 30-50 kali (Desorby dkk., 1997 dalam Hariyadi, 2017), cocok diaplikasikan untuk mikroenkapsulasi komponen yang pada umumnya sensitif terhadap panas dan waktu pengeringan sangat pendek karena luasnya permukaan.

Dalam pembuatan cokelat probiotik hal yang penting yang harus diperhatikan selain teknik pembuatan, teknik penyimpanan juga merupakan hal yang sangat penting karena menentukan kualitas produk akhir. Masa simpan cokelat berkisar

antara 12-24 bulan dan selama penyimpanan terjadi perubahan struktur (Subramanian dkk., 2000 dalam Nightingale dkk., 2010). Penyimpanan yang tidak memadai, terutama dengan fluktuasi suhu dapat menyebabkan penurunan kualitas cokelat. Penelitian tentang hal ini telah banyak dilakukan, Nightingale dkk., 2010 melakukan penelitian penyimpanan cokelat dengan suhu tinggi hasilnya menunjukkan Cokelat yang disimpan pada suhu tinggi dengan dan tanpa fluktuasi, lebih mudah patah, memiliki waktu meleleh yang lebih lama, kurang manis, dan memiliki rasa krim yang lebih sedikit. Sampel-sampel ini memiliki permukaan yang lebih kasar, butiran yang lebih sedikit tetapi lebih besar, dan permukaan yang heterogen. Secara keseluruhan, semua cokelat hitam yang disimpan mengalami perubahan instrumental atau persepsi yang disebabkan oleh kondisi penyimpanan.

## 2. Bahan dan Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Laboratorium Penelitian Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Jalan Dr. Setiabudhi No. 193 dan Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran Divisi Formulasi dan Produksi, Jalan Raya Bandung – Sumedang, Km. 21 Jatinangor 45363 pada bulan Juni 2023.

Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya adalah suspensi *Lactobacillus plantarum* FNCC 0027 dengan sekitar  $10^9$  CFU/mL (UGM, Yogyakarta, Indonesia), *embassy dark chocolate couverture 75%* (PT. Freyabadi Indotama, Karawang, Indonesia), maltodekstrin DE 10-15 (Zhucheng Dongxiao Biotechnology, China), dan aquadest (Indonesia). Bahan yang digunakan untuk analisis diantaranya aquadest steril, MRS Agar (Oxoid, USA) dan MRS Broth (Oxoid, USA), larutan fisiologis (larutan NaCl) 0,85% (Indonesia), etanol 96% (Indonesia) dan aquadest (Indonesia).

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain melting kettle 6L - CW M1007 (*chocolate world*, Belgia), mixer (Phillips, Indonesia), *polycarbonate mould* CW1887 (*Chocolate World*, Belgia), *Thermometer Chocolate* (Silikomart, Italia), spatula (Silikomart, Italia), timbangan *digital* KD-160 (Tanita, Cina) gelas ukur 1000 mL (Pyrex, Indonesia), saringan (Indonesia), sendok (Indonesia), *magnetic stirrer* (IKA, Inggris), (Indonesia), spatula (Silikomart, Italia), *spray dryer* (Kodi LPG 5, China) dan labu Erlenmeyer 1000 mL (Pyrex, Indonesia), aluminium foil (Klinpak Aluminum Foil, Indonesia), sarung tangan *disposable* (Sensi Gloves, Indonesia) dan tisu (Tessa, Indonesia).

Penelitian ini terbagi menjadi dua bagian yaitu penelitian pertama adalah penelitian pendahuluan yang terdiri dari pembuatan suspensi bakteri dan pembuatan serbuk bakteri dengan menggunakan enkapsulan maltodekstrin, teknik *spray drying*. Analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah menghitung jumlah sel probiotik *Lb.plantarum* dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

Penelitian kedua merupakan penelitian utama yaitu pembuatan cokelat probiotik. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah regresi linier sederhana dengan dua variabel, yaitu variabel bebas (X) terdiri dari lama penyimpanan yaitu hari ke-0, 2,4, dan 6, sedangkan variabel respon terikat (Y) terdiri dari viabilitas bakteri probiotik, dengan respon analisis yang terdiri dari analisis mikrobiologi, dan kimia berupa analisis kadar air dan kadar asam lemak bebas dengan ulangan sebanyak dua kali. Rancangan analisis dilakukan untuk mengetahui hubungan atau korelasi variabel bebas dengan variabel respon yang diketahui dengan menghitung korelasi antara kedua variabel tersebut terhadap respon yang diukur. Nilai koefisien korelasi (r) dapat dihitung :

$$r = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{\sqrt{n ((\sum X_i^2 - \sum X_i)^2) . (n (\sum Y_i)^2 - (\sum Y_i)^2)}}$$

Koefisien korelasi memperlihatkan kekuatan (strength) hubungan linier dan arah hubungan dua variabel. Nilai r berlaku  $0 \leq r^2 \leq 1$  sehingga untuk koefisien korelasi didapat hubungan  $-1 \leq r \leq + 1$ . Jika korelasinya positif, maka kedua variabel tersebut memiliki hubungan satu arah. Artinya jika nilai variabel X tinggi, maka nilai variabel Y juga tinggi. Sebaliknya jika koefisien korelasinya negatif maka kedua variabel tersebut mempunyai hubungan yang berbanding terbalik, yaitu jika nilai variabel X tinggi maka nilai variabel Y akan rendah dan sebaliknya, agar memudahkan interpretasi kekuatan hubungan antara dua variabel, dapat dilihat dari kriteria berikut:

Tabel 1. Tabel Nilai Koefisien Korelasi

Range	Deskripsi
0	Tidak ada korelasi antara dua variabel
> 0 – 0,25	Korelasi sangat lemah
> 0,25 – 0,5	Korelasi cukup
> 0,5 – 0,75	Korelasi kuat
> 0,75 – 0,99	Korelasi sangat kuat
1	Korelasi sempurna

Pada produk cokelat probiotik selain dilakukan Analisa sensorik yang meliputi warna, aroma, rasa dan tekstur. Analisa sensorik menggunakan metode uji hedonic atau uji kesukaan yang akan dilakukan oleh panelis semi terlatih sebanyak 30 orang. Uji hedonic panelis terhadap respon produk yang diuji dengan skala hedonik yaitu 1-9 yang kemudian ditransformasi ke dalam skala numerik. Kriteria penilaian uji hedonic dapat dilihat pada tabel 2 berikut ini

Skala Hedonik	Skala Numerik
1	Amat sangat tidak suka
2	Sangat tidak suka

3	Tidak suka
4	Agak tidak suka
5	Netral
6	Agak suka
7	Suka
8	Sangat suka
9	Amat sangat suka

### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1. Penelitian Pendahuluan

##### 3.1.1. Pembuatan Suspensi Probiotik

Tujuan dari pembuatan suspensi probiotik untuk mendapatkan kepadatan sel probiotik sesuai dengan jumlah yang diinginkan, yang selanjutnya suspensi bakteri akan dibuat menjadi serbuk probiotik yang akan digunakan pada pembuatan cokelat probiotik. Metode yang digunakan dalam pembuatan suspensi probiotik adalah metode TPC (*Total Plate Count*). Jumlah sel yang diperoleh pada pembuatan suspensi dalam penelitian ini adalah  $2,4 \times 10^8$  CFU/ml.

##### 3.1.2. Pembuatan Serbuk Probiotik

Tujuan Pembuatan serbuk probiotik adalah untuk mendapatkan serbuk mikrokapsul halus (10 - 400  $\mu$ m), dengan menggunakan suspensi bakteri yang akan dienkapsulasi menggunakan maltodekstrin yang kemudian dikeringkan dengan teknik *spray drying*. Dengan penggunaan suhu *inlet* 130°C dan suhu *outlet* 65°C pada *spray drying*, jumlah sel probiotik mengalami penurunan yang signifikan yaitu menjadi  $1,47 \times 10^6$  CFU/gram atau 6,17 CFU/g.

#### 3.2. Penelitian Utama

Penelitian utama adalah pembuatan cokelat probiotik. Pada pembuatan cokelat probiotik akan dilakukan proses pencampuran sebanyak 10% serbuk probiotik kedalam cokelat hitam *couverture* (*dark Chocolate couverture*) yang mengandung kakao 75%. Sebelum dilakukan pencampuran pada suhu 45°C - 50°C cokelat dilelehkan terlebih dahulu kemudian dilakukan tempering selama 12 jam dengan menggunakan alat yaitu melting kettle dengan suhu 30°C. Selanjutnya sesaat sebelum dilakukan

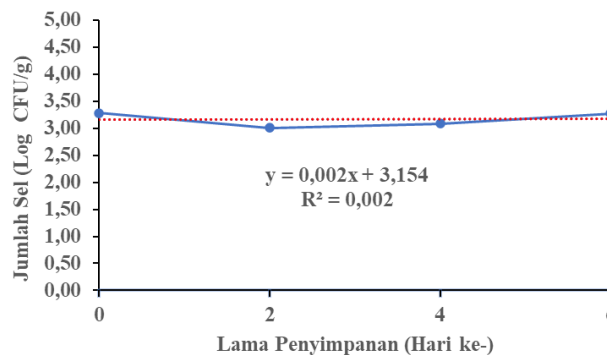
pencampuran, dalam suhu ruang 18°C – 20°C suhu cokelat diturunkan menjadi 27°C, kemudian dilakukan pencampuran 10 gram serbuk probiotik kedalam cokelat hitam *couverture* sebanyak 1 kg, selanjutnya serbuk probiotik dan cokelat diaduk selama 5 menit menggunakan mixer. Cokelat kemudian dicetak dan didinginkan dalam lemari pendingin selama 20 menit dengan suhu 4°C, setelah cokelat dikeluarkan dari cetakan dilakukan aging selama 30 menit dan selanjutnya dikemas dengan menggunakan kertas alumunium foil dan kertas pembungkus. Jumlah probiotik *Lb. Plantarum* yang ada pada cokelat probiotik sebesar  $1,92 \times 10^3$  CFU/g.

##### 3.2.1. Viabilitas Probiotik

Penentuan viabilitas pada produk pangan probiotik merupakan salah satu prasyarat yang sangat dibutuhkan dalam menentukan kualitas produk probiotik. Viabilitas adalah kemampuan suatu mikroba untuk tumbuh dan berkembang selama proses dan penyimpanan yang diukur dengan jumlah sel yang dapat hidup dalam sampel. Penyimpanan pada penelitian ini dilakukan pada suhu 20°C selama 6 hari dan pemeriksaan viabilitas diukur pada hari ke - 0, 2, 4 dan 6. Hasil pengamatan korelasi lama penyimpanan terhadap jumlah sel hidup (CFU/gram) dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Hasil Analisis Selama Jumlah Sel Probiotik Selama Penyimpanan Pada Suhu 20°C

Jumlah Sel Probiotik (log CFU/g)			
Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
3,28 ± 0,02	3,00 ± 0,07	3,08 ± 0,06	3,27 ± 0,04



Gambar.2 Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Viabilitas Probiotik Dalam Cokelat hitam yang disimpan dalam suhu 20°C

Berdasarkan kurva korelasi antara lama penyimpanan selama 6 hari pada suhu 20°C terhadap viabilitas probiotik *Lb. plantarum* pada cokelat mempunyai korelasi yang sangat lemah dengan nilai koefisien r sebesar 0,002 pada persamaan  $y = 0,0024x + 3,1543$ . Hal ini memiliki arti bahwa penyimpanan pada suhu 20°C selama 6 hari tidak memberi pengaruh yang besar terhadap perubahan jumlah sel probiotik pada cokelat. Hari ke - 0 adalah hari dimana produk diproduksi, jumlah sel hidup probiotik yang terkandung dalam cokelat adalah  $3,28 \pm 0,02$  CFU/gram, dan pada akhir penyimpanan selama 6 hari jumlah sel menjadi  $3,27 \pm 0,04$  CFU/g.

Beberapa penelitian tentang cokelat probiotik yang berkaitan dengan penyimpanan pada suhu 20°C telah dilakukan satunya oleh Mirkovic dkk (2018) melakukan penelitian terhadap viabilitas cokelat hitam probiotik *Lb. Plantarum* dengan bahan enkapsul berupa protein yaitu susu skim dengan metode *spray drying* dengan suhu penyimpanan 20°C mengungkapkan bahwa jumlah sel *Lb. plantarum* dalam cokelat mengalami penurunan setelah 90 hari disimpan cokelat probiotik disimpan.

Pada Penelitian ini penurunan jumlah sel probiotik terjadi setelah hari ke-0 sampai hari ke-2, dan pada hari ke-2 sampai hari ke-6 jumlah sel probiotik mengalami fenomena peningkatan.

Terjadinya penurunan atau kenaikan jumlah sel probiotik dalam cokelat kemungkinan diakibatkan oleh beberapa faktor. Menurut Crittenden (2009); Saarella dkk (2000) dalam Petronijevic (2015) menyatakan bahwa selama produksi dan penyimpanan sel probiotik mengalami tekanan yang berbeda terkait dengan paparan oksigen, konsentrasi gula, efek osmotik dan geseran mekanis. Untuk bertahan dari hal-hal diatas terutama yang berkaitan dengan kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan atau perubahan lingkungan yang ekstrim maka bakteri melakukan dormansi atau dorman.

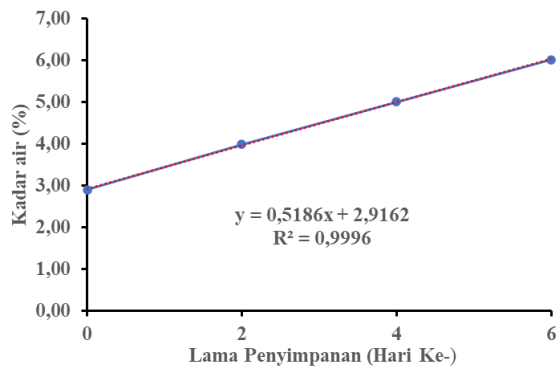
Bakteri akan keluar dari keadaan dorman dan kembali aktif ketika kondisi lingkungan menjadi lebih sesuai dan mendukung pertumbuhan bakteri, misalnya ketika ada lebih banyak nutrisi atau kondisi lingkungan menjadi lebih netral. Kembalinya aktivitas bakteri ke kondisi normal ini akan berimbas kepada peningkatan jumlah sel bakteri probiotik.

### 3.2.2. Kadar Air

Kadar air menunjukkan air yang terdapat dalam bahan atau produk pangan apapun keadaannya, baik terikat dalam bentuk hidratisasi, permukaan maupun air bebas (Estiasih dkk, 2018). Peningkatan kadar air dalam cokelat batang probiotik selama penyimpanan dapat memengaruhi stabilitas mikroorganisme probiotik, tekstur produk dan kualitas keseluruhan. Hasil pengamatan korelasi lama penyimpanan terhadap kadar air dapat dilihat pada tabel dan kurva berikut dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Analisis Kadar Air Cokelat Probiotik Selama Penyimpanan Pada Suhu 20°C

Kadar Air (%)			
Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
$2,89 \pm 0,001$	$3,98 \pm 0,001$	$5,00 \pm 0,02$	$6,01 \pm 0,001$



Gambar 2. Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Air Dalam Cokelat Hitam Probiotik yang disimpan dalam suhu 20°C

Berdasarkan kurva diatas dapat dilihat bahwa kadar air dalam cokelat probiotik mengalami kenaikan hingga hari ke-6, dan jika dilihat dari nilai  $r$  yaitu 0,9996 dari persamaan  $y = 0,5186x + 2,9162$  maka lama penyimpanan terhadap kadar air memiliki korelasi yang kuat. Dengan hubungan korelasi yang kuat antara lama penyimpanan terhadap kadar air diduga semakin lama penyimpanan, kadar air yang terkandung dalam cokelat probiotik akan semakin tinggi. Pada umumnya cokelat memiliki kadar air dibawah 3%. Mirkovic (2018) menggunakan cokelat hitam dengan kandungan air dalam cokelat sebesar 0,82%, setelah penambahan probiotik kedalam cokelat dan selama penyimpan dengan suhu penyimpanan 20°C jumlah kadar air dalam cokelat probiotik tidak mengalami perubahan dibanding dengan cokelat control.

Peningkatan kadar air pada produk cokelat dapat disebabkan oleh kondisi lingkungan penyimpanan. Rh atau kelembaban udara merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kadar air dalam bahan pangan. Jika tempat penyimpanan produk kelembaban udaranya tinggi maka kadar air dalam produk akan menjadi tinggi. Cokelat memiliki sifat yang mudah menyerap kelembaban dari lingkungannya. Menurut Afaoka (2007) tingkat kelembaban ideal untuk penyimpanan cokelat berkisar 50-60% dan

cokelat hitam mulai menyerap air ketika RH lingkungannya 85%. Pada penelitian ini selama penyimpanan pada suhu 20°C kelembaban udara berkisar antara 49% - 56%.

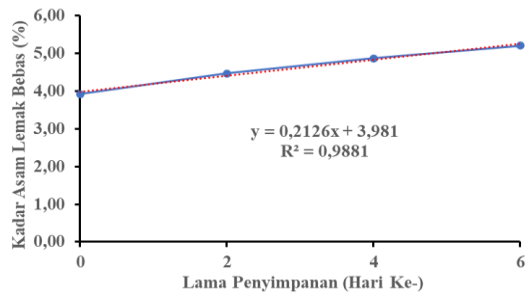
Pada penelitian ini kenaikan kadar air pada cokelat probiotik ini diduga berkaitan dengan maltodekstrin sebagai enkapsulan yang memiliki sifat higroskopis yang tinggi, sehingga maltodekstrin dengan mudah dapat menyerap air di udara yang menyebabkan kenaikan kadar air pada produk. Kadar air juga dapat meningkat akibat adanya aktivitas metabolisme dari probiotik yang mampu bertahan di dalam cokelat dimana probiotik yang hidup mengeluarkan enzim amilase dan lipase. Enzim amilase menguraikan amilum yang berasal dari maltodekstrin yang berasal dari pati dan lipase mengurai lemak cokelat, dan kedua senyawa tersebut setelah memasuki siklus asam sitrat akan menghasilkan CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O (Thenawijaya, 1991).

#### 4.2.2. Kadar Asam Lemak Bebas

Tujuan dari uji kadar asam lemak ini adalah untuk mengetahui jumlah asam lemak bebas yang terkandung dalam produk selama waktu penyimpanan. Kadar asam lemak bebas dapat mempengaruhi rasa, aroma, tekstur, dan keawetan lemak atau produk yang mengandung lemak. Asam lemak bebas ini dihasilkan dari lemak yang terhidrolisis karena adanya aktivitas enzim atau suhu dan air. Hasil pengamatan korelasi lama penyimpanan terhadap kadar air dapat dilihat pada Tabel dan kurva berikut dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Analisis Kadar Asam Lemak Bebas Cokelat Probiotik Selama Penyimpanan Pada Suhu 20°C

Kadar Asam Lemak Bebas (%)			
Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
3,93 ± 0,003	4,47 ± 0,028	4,87 ± 0,022	5,21 ± 0,002



Gambar.3 Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Asam lemak Bebas Dalam Cokelat Hitam Probiotik yang disimpan dalam suhu 20°C

Berdasarkan nilai koefisien r yaitu 0,9881 dari persamaan  $y = 0,2126x + 3,981$  maka lama penyimpanan terhadap kadar asam lemak memiliki korelasi yang kuat karena selama penyimpanan 6 hari pada suhu 20°C asam lemak bebas mengalami kenaikan. Kenaikan asam lemak bebas dapat terjadi akibat suhu dan kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan asam lemak dalam cokelat terurai lebih cepat karena suhu yang tinggi menyebabkan laju reaksi kimia menjadi lebih cepat, sedangkan kelembaban dapat membantu mengkatalisasi reaksi kimia, termasuk pemecahan asam lemak sehingga menyebabkan asam lemak bebas jumlahnya meningkat (Sumbono, 2016).

Namun dalam penelitian ini suhu dan kelembaban penyimpan termasuk rendah diduga karena adanya aktivitas enzim dari bakteri probiotik yang terkandung dalam cokelat. Cokelat hitam *couverture* merupakan produk yang mengandung kadar lemak minimal 35% yang berasal dari lemak kakao, yang didominasi oleh tiga jenis asam lemak yaitu stearat, palmitat dan oleat. Dengan kandungan lemak yang cukup tinggi dan adanya penambahan probiotik terenkapsulasi kedalam cokelat berpotensi terjadinya perubahan pada senyawa lemak yang terkandung dalam cokelat.

Enkapsulasi dilakukan dengan harapan probiotik tetap hidup selama penyimpanan dan pada saat dikonsumsi dengan menggunakan maltodekstrin sebagai penyalut. Namun karena maltodekstrin tidak

optimal dalam melapisi probiotik mengakibatkan adanya nutrisi yang berasal dari cokelat masuk kedalam enkapsulan sehingga probiotik yang awalnya dalam kondisi dorman kembali beraktivitas. Dalam bermetabolisme probiotik menghasilkan enzim lipase yang dihasilkan oleh probiotik dapat menyebabkan lemak terhidrolis menjadi asam lemak bebas dan menyebabkan kadar asam lemak pada produk meningkat (Kataren, 2012).

### 3.3. Uji Hedonik

Uji hedonik adalah metode yang digunakan untuk mengevaluasi kesukaan subjektif terhadap suatu produk atau sampel makanan. Tujuan utama dari hedonik adalah mengevaluasi tingkat kepuasan atau ketidakpuasan konsumen terhadap karakteristik organoleptik suatu produk seperti rasa, aroma, penampilan, tekstur dan keseluruhan kesan sensori (Setyaningsih, 2010).

#### 3.3.1. Warna

Warna merupakan salah satu aspek yang dievaluasi dalam uji hedonik untuk mengukur preferensi atau kesukaan konsumen terhadap produk berdasarkan karakteristik visualnya. Warna mampu mempengaruhi kemampuan konsumen dalam mengidentifikasi jenis flavor pada suatu produk sehingga warna dapat menentukan derajat penerimaan konsumen terhadap suatu produk (Winarno, 1997)

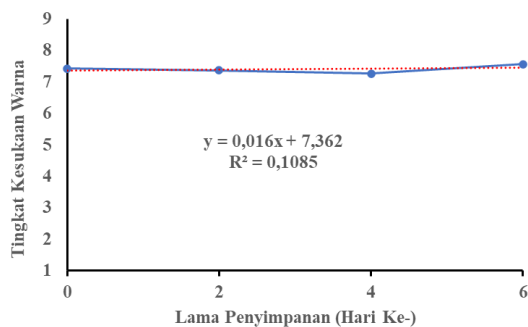
Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa warna cokelat probiotik pada hari ke-6 memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan cokelat probiotik yang lainnya. Korelasi lama penyimpanan (hari) terhadap analisis organoleptik warna pada cokelat probiotik dapat dilihat pada gambar 8.

Tabel 4. Hasil Organoleptik Atribut warna

Lama Penyimpanan (Hari ke-) (X)	0	2	4	6
Tingkat kesukaan Warna (Y)	7,43	7,37	7,27	7,57

Berdasarkan gambar 8 dapat di ketahui bahwa warna cokelat probiotik memiliki

tingkat kesukaan yang disukai selama 6 hari penyimpanan. Pada penyimpanan hari ke-0 cokelat probiotik memiliki nilai 7,43, selanjutnya pada hari ke-2 cokelat probiotik mengalami penurunan menjadi 7,37, pada hari ke-4 cokelat probiotik menurun kembali menjadi 7,27 yang merupakan tingkat kesukaan terkecil diantara cokelat probiotik lainnya dan pada hari ke-6 cokelat probiotik mengalami peningkatan nilai menjadi 7,57 Berdasarkan uji regresi linear pada cokelat probiotik, nilai korelasi antara tingkat spesifikasi nilai atribut warna dengan lama penyimpanan (hari ke-) adalah 0,1085 yang termasuk dalam kategori sangat lemah dan dapat disimpulkan tingkat kesukaan pada warna cokelat probiotik yang disimpan dengan lama penyimpanan yang berbeda menunjukkan tidak berbeda nyata.



Gambar.4 Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Warna Pada Cokelat Hitam Probiotik yang disimpan dalam suhu 20°C

### 3.3.2. Aroma

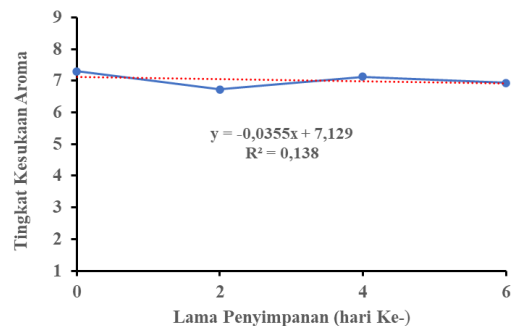
Aroma memberikan kontribusi signifikan terhadap keseluruhan kesan sensorik dan kesukaan terhadap produk sehingga warna merupakan salah satu aspek penting dalam uji sensorik. Meilgaard dkk, (2000) dalam Ramadhan (2022) menyatakan bahwa aroma sulit diukur karena memiliki sensitifitas dan kesukaan yang berbeda-beda.

Tingkat kesukaan aroma hasil uji organoleptik pada cokelat probiotik dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5. dibawah ini .

Tabel 5. Hasil Organoleptik Atribut Aroma

Lama Penyimpanan (Hari ke-) (X)	0	2	4	6
Tingkat kesukaan Aroma (Y)	7,30	6,73	7,13	6,93

Diketahui aroma cokelat probiotik pada penyimpanan hari ke-0 memiliki nilai tertinggi dibandingkan cokelat probiotik yang lainnya. Namun dapat diketahui bahwa aroma cokelat probiotik memiliki tingkat kesukaan yang disukai selama 6 hari penyimpanan suhu 20°C.



Gambar.5 Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Aroma Pada Cokelat Hitam Probiotik yang disimpan dalam suhu 20°C

Korelasi antara lama penyimpanan terhadap tingkat kesukaan dapat dilihat pada kurva di gambar 9, dimana kurva atribut aroma pada cokelat probiotik yang memiliki nilai korelasi  $r = 0,138$  dengan persamaan  $y = -0,0355x + 7,129$  menyatakan bahwa korelasi lama penyimpanan terhadap aroma probiotik yang disimpan pada suhu 20°C memiliki korelasi yang sangat lemah, dan tingkat kesukaan terhadap aroma cokelat probiotik yang disimpan selama 0, 2, 4, dan 6 hari tidak berbeda nyata.

### 3.3.3. Rasa

Rasa merupakan sensasi yang muncul dalam mulut saat makan atau minum suatu produk. Penilaian rasa dalam uji organoleptik melibatkan pengamatan dan penilaian terhadap kualitas rasa seperti manis, pahit, asin atau pedas. Penilaian rasa merupakan hal yang sangat penting karena merupakan kunci yang dapat memengaruhi penerimaan konsumen terhadap produk.

Berdasarkan tabel 6 dapat diketahui bahwa rasa cokelat probiotik pada hari ke-0 dan hari ke-4 memiliki nilai tertinggi

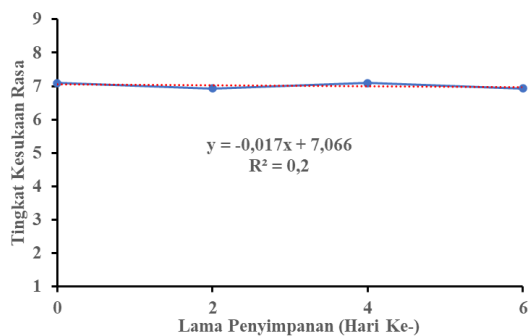


dibandingkan dengan coklat probiotik yang lainnya. Korelasi lama penyimpanan (hari) terhadap analisis organoleptik rasa pada coklat probiotik dapat dilihat pada gambar 6

Tabel 6. Hasil Organoleptik Atribut Rasa

Lama Penyimpanan (Hari ke-) (X)	0	2	4	6
Tingkat kesukaan Rasa (Y)	7,30	6,73	7,13	6,93

Berdasarkan gambar 10 dapat diketahui bahwa rasa coklat probiotik memiliki tingkat kesukaan yang disukai selama 6 hari penyimpanan. Pada penyimpanan hari ke-0 coklat probiotik memiliki nilai 7,1, selanjutnya pada hari ke-2 coklat probiotik mengalami penurunan tingkat menjadi 6,93, pada hari ke-4 coklat probiotik mengalami kenaikan dari sebelumnya menjadi 7,1 dan pada hari ke-6 coklat probiotik mengalami penurunan kembali dari nilai sebelumnya menjadi 6,93. Berdasarkan persamaan regresi linear pada pada gambar 10 dengan nilai korelasi  $r = 0,2$  dari persamaan  $y = -0,017x + 7,066$ , maka lama penyimpanan (hari) terhadap atribut tingkat kesukaan rasa memiliki korelasi yang sangat lemah dan memberikan nilai tidak berbeda nyata terhadap rasa coklat probiotik. Namun demikian dari beberapa panelis merasakan adanya *after test* rasa asam saat mencoba sampel. Rasa asam ini diduga adanya aktivitas metabolisme dari probiotik yang menghasilkan metabolit berupa asam laktat.



Gambar.6 Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Rasa Pada Cokelat

Hitam Probiotik yang disimpan dalam suhu 20°C

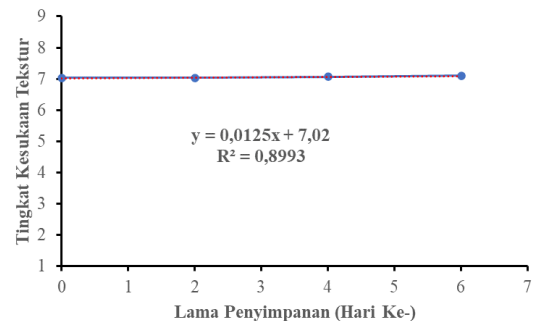
### 3.3.4. Tekstur

Uji organoleptik tekstur pada coklat probiotik ini tidak dilihat dari aspek kekerasan melainkan dinilai kelelahan dan partikel size saat berada dalam mulut, Hal ini dilakukan karena adanya penambahan serbuk probiotik yang memiliki ukuran 30µ yang merupakan batas maksimum ukuran yang disarankan untuk penambahan suatu serbuk kedalam coklat.

Berdasarkan tabel 7 dapat diketahui bahwa tekstur coklat probiotik pada hari ke-6 memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan coklat probiotik yang lainnya. Korelasi lama penyimpanan (hari) terhadap analisis organoleptik tekstur pada coklat probiotik dapat dilihat pada gambar 7.

Tabel 7. Hasil Organoleptik Atribut Tekstur

Lama Penyimpanan (Hari ke-) ( X)	0	2	4	6
Tingkat kesukaan Tekstur (Y)	7,30	7,03	7,07	7,10



Gambar.11 Kurva Korelasi Lama Penyimpanan Terhadap Tekstur Pada Cokelat Hitam Probiotik yang disimpan dalam suhu 20°C

Berdasarkan gambar 11 dapat diketahui bahwa tekstur coklat probiotik memiliki tingkat kesukaan yang disukai selama 6 hari penyimpanan. Pada penyimpanan hari ke-0 coklat probiotik memiliki nilai 7,03, selanjutnya pada hari ke-2 coklat probiotik mengalami penurunan tingkat menjadi 7,03, pada hari ke-4 coklat probiotik mengalami kenaikan dari sebelumnya menjadi 7,07 dan pada hari ke-6 coklat probiotik kenaikan menjadi

7,1. Berdasarkan uji regresi linear pada cokelat probiotik, nilai korelasi antara tingkat spesifikasi nilai atribut tekstur dengan lama penyimpanan (hari) adalah 0,8993 yang termasuk dalam kategori sangat kuat dan tidak berbeda nyata terhadap tingkat kesukaan terhadap tekstur.

Sifat – sifat leleh cokelat merupakan faktor penting untuk mendefinisikan kualitas cokelat dimana cokelat memiliki bentuk yang padat pada suhu ruang (20°C – 25°C) dan akan meleleh pada suhu tubuh yaitu sekitar 37°C. Proses cokelat meleleh di dalam mulut merupakan suatu proses yang dinamis dan melibatkan fase transisi dari kondisi padat pada suhu ruang menjadi suatu suspensi padat yang halus pada suhu tubuh (Shah dkk, 2010 dalam Ramadhan, 2022).

#### 4. Kesimpulan

Lama penyimpanan yang dilakukan disuhu ruang 20°C dengan waktu enam hari terhadap viabilitas probiotik *Lb. Plantarum* yang dienkapsulasi pada cokelat memiliki korelasi yang sangat lemah dengan nilai  $r = 0,002$ . Pada kadar air dan kadar asam lemak bebas cokelat probiotik, korelasi lama penyimpanan terhadap ke dua variable tersebut memiliki korelasi yang kuat dengan masing-masing nilai  $r = 0,9996$  dan  $r = 0,9881$ . Adapun sifat sensorik cokelat yang terdiri dari warna, aroma, rasa dan tekstur setelah penambahan probiotik tidak mengalami perubahan dan disukai oleh panelis dengan nilai rata-rata 7.

#### 5. Daftar Pustaka

Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Vieira, J. 2008. **Effects of Tempering and Fat Crystallisation Behaviour On Microstructure, Mechanical Properties and Appearance In Dark Chocolate Systems.** Journal of Food Engineering, 89(2), 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.04.021>

Antarini, A. A. A. 2011. **Sinbiotik Antara Prebiotik dan Probiotik.** Jurnal Ilmu Gizi, 2(2), 148–155.

Aragon-Alegro, L. C., Alarcon Alegro, J. H., Roberta Cardarelli, H., Chih Chiu, M., & Isay Saad, S. M. 2007. **Potentially Probiotic And Synbiotic Chocolate Mousse.** LWT, 40(4). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.02.020>

Badan POM. 2017. **Pedoman Cokelat.** Direktorat Standak Produk Pangan.

Bhadoria, P. B. S., & Mahapatra, S. C. 2011. **SCIENCEDOMAIN international Prospects, Technological Aspects and Limitations of Probiotics-A Worldwide Review.** Dalam Review Article European Journal of Food Research & Review (Vol. 1, Nomor 2). [www.sciencedomain.org](http://www.sciencedomain.org)

Buckle, K. A. 1987. **Ilmu Pangan.** Universitas Indonesia Press.

Castro, N., Durrieu, V., Raynaud, C., & Rouilly, A. 2016. **Influence of DE-value on the physicochemical properties of maltodextrin for melt extrusion processes.** Carbohydrate Polymers, 144, 464–473. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.004>

Chen, H. Y., Li, X. Y., Liu, B. J., & Meng, X. H. 2017. **Microencapsulation of Lactobacillus Bulgaricus and Survival Assays Under Simulated Gastrointestinal Conditions.** Dalam Journal of Functional Foods, 29, 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.12.015>

Dhini, V. A. 2022. **10 Negara Konsumen Cokelat Terbesar.** databoks.

- <https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2022/07/20/10>
- Dickinson, E. (2003). **Hydrocolloids At Interfacial and Influence On Properties Of Dispersed Systems**. *Food Hydrocolloids*, 17, 25–39.
- Gadhiya, D., Patel, A. R., & Prajapati, J. B. 2015. **Current Trend and Future Prospective of Functional Probiotic Milk Chocolates and Related Products - A review**. Dalam *Czech Journal of Food Sciences* (Vol. 33, Nomor 4, hlm. 295–301). Institute of Agricultural and Food Information. <https://doi.org/10.17221/676/2014-CJFS>
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. 2007. **Applications Of Spray-drying In Microencapsulation Of Food Ingredients: An Overview**. Dalam *Food Research International* (Vol. 40, Nomor 9, hlm. 1107–1121). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. de A. F., & Shah, N. P. 2010. **Probiotic Dairy Products As Functional Foods**. Dalam *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 455–470. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x>
- Hanidah, I, Kirana, A.I., Nurhadi, B., Sumanti, D.M., 2021. **Fungsionalitas Mikroenkapsulasi Bakteri Probiotik dengan Pengeringan Semprot : Kajian Literatur**. Dalam *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri* (Vol. 10, No. 3, hlm 274 – 282). <https://doi.org/10.21776/ub.industri.a.2021.010.03.8>
- Hariyadi, P. 2017. **Pengeringan Semprot: Aplikasi untuk Mikroenkapsulasi Komponen Fungsional**. *Foodreview Indonesia*, 50–53.
- Hossain, M. N., Ranadheera, C. S., Fang, Z., & Ajlouni, S. 2022. **Interaction between Chocolate Polyphenols and Encapsulated Probiotics during In Vitro Digestion and Colonic Fermentation**. *Fermentation*. <https://www.mdpi.com/1651356>
- Konar, N., Palabiyik, I., Toker, O. S., Polat, D. G., & ... 2018. **Conventional and Sugar-free Probiotic White Chocolate: Effect of Inulin DP on Various Quality Properties and Viability of Probiotics**. *Journal of Functional ...* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464618300616>
- Lestari, L. A. 2021. **Peran Probiotik di Bidang Gizi & Kesehatan** (UGM press, Ed.; kedua). Gajah Mada University Press.
- Lončarević, I., Pajin, B., Tumbas Šaponjac, V., Petrović, J., Vulić, J., Fišteš, A., & Jovanović, P. 2019. **Physical, Sensorial and Bioactive Characteristics of White Chocolate With Encapsulated Green Tea Extract**. Dalam *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9855>
- Mirković, M., Seratlić, S., Kilcawley, K., Mannion, D., Mirković, N., & Radulović, Z. 2018. **The Sensory Quality and Volatile Profile of Dark Chocolate Enriched With Encapsulated Probiotic Lactobacillus Plantarum Bacteria**. *Sensors (Switzerland)*, 18(8). <https://doi.org/10.390/s18082570>
- Mortazavian A, Razavi SH, Ehsani MR, & Sohrabvandi S. 2007. **Principles and**

- Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganisms.** Iranian Journal of Biotechnology, 1–18.
- Nightingale, L. M., Lee, S. Y., & Engeseth, N. J. 2011. **Impact of Storage on Dark Chocolate: Texture and Polymorphic Changes.** Journal of Food Science, 76(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01970.x>
- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. 201. **Bacteria and Chocolate: A Successful Combination for Probiotic Delivery.** International Journal of Food Microbiology, 141(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.008>
- Rahayu, D. S. 2018. **Chocolate From Cocoa Bean To Bar The Indonesian Heritage Treasure** (P. Gandamana, Ed.; 2nd ed.). Petrus Gandama.
- Ramadhan, F., Muchtadi, T., Subroto, E. 2022. **Karakteristik Produk Chocolate Compound Dengan Tambahan Inulin (Fat Replacer) Dan Stevia (Sweetener).** Pasundan Food Technology (PFTJ), Volume X, No. X Tahun 2022
- Ramli, N. F. Y. J., Foong, Y. jin, Lee, S. T., Tan, Y. N., & Ayob, M. K. 2013. **Incorporation of Potential Probiotic Lactobacillus Plantarum Isolated From Fermented Cocoa Beans Into Dark Chocolate: Bacterial Viability and Physicochemical Properties Analysis.** Journal of Food Quality, 36(3), 164–171. <https://doi.org/10.1111/jfq.12028>
- Rittershaus, E.S.C., Hun Baek, S., Sassetti. C.M, 2013. **The Normalcy Of Dormancy: Common Themes in Microbial Quiescence.** Cell Host & Microbe Review. Department of Microbiology and Physiological Systems, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA 01655, USA Howard Hughes Medical Institute. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.05.012>
- Sanders, M. E., Merenstein, D., Merrifield, C. A., & Hutkins, R. 2018. **Probiotics For Human Use.** Dalam Nutrition Bulletin (Vol. 43, Nomor 3, hlm. 212–225). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/nbu.12334>
- Saputro, A. D. 2021. **Sinergi Triple Helix Faktor-Faktor Kualitas Cokelat Couvertur: Pentingnya Edukasi Bagi Konsumen & Produsen.** Foodreview Indonesia, 56–63.
- Saputro, A. D., Van de Walle, D., Hinneh, M., Van Durme, J., & Dewettinck, K. 2018. **Aroma Profile and Appearance of Dark Chocolate Formulated With Palm Sugar–sucrose Blends.** European Food Research and Technology, 244(7), 1281–1292. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3043-2>
- Succi, M., Tremonte, P., Pannella, G., Tipaldi, L., Cozzolino, A., Coppola, R., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.019>
- Sulistiani. 2018. **Selection of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated From Palm Sap (Borassus flabellifer Linn.) Origin Kupang, East Nusa Tenggara.** AIP

Conference Proceedings, 2002.  
<https://doi.org/10.1063/1.5050155>

Talbot, G. 1994. **Chocolate Temper**.  
Industrial Chocolate Manufacture and  
Use.

Tunjung Sari, A., Wahyudi, T., &  
Febrianto, N. A. 2015. **Diversifikasi  
Kakao Untuk Pangan Dan Non  
Pangan**. Dalam T. Wahyudi,  
Pujiyanto, & Misnawi (Ed.), *Kakao  
Sejarah, Botani, Proses Produksi,  
Pengolahan, Dan Perdagangan* (1 ed.,  
hlm. 594–613). Gadjah Mada  
University Press.

Wahana. 2017. **Sejarah Cokelat**. 2003.  
[Https://wahana  
interfood.com/id/cokelatpedia/sejarah  
-cokelat](https://wahanainterfood.com/id/cokelatpedia/sejarah-cokelat)

Widyaningsih, E. N. 2011. **Peran  
Probiotik Untuk Kesehatan**. Dalam  
*Jurnal kesehatan*, 4(1), 14–20.

Yuniastuti, A. (2015). **PROBIOTIK  
(Dalam Perspektif Kesehatan)**. (1  
ed.). Unnes Press