

**VIABILITAS BAKTERIASAM LAKTAT, KEASAMAN DAN WAKTU PELELEHAN ES
KRIM PROBIOTIK MENGGUNAKAN STARTER
Lactobacillus casei DAN *Bifidobacterium bifidum*
[Viability of Lactic Acid Bacteria, Acidity and Melting Time of Pro-biotic Ice Cream using
starter *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*]**

S. Mulyani, A.M. Legowo dan A.A. Mahanani
Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang

Received April 04, 2008; Accepted May 30, 2008

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi antara perbandingan starter dan lama penyimpanan terhadap viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL), Keasaman dan Waktu Pelelehan es Krim Probiotik. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial (3x3) dengan 4 kali ulangan. Faktor I yaitu perbandingan starter bakteri *L.casei* dan *B. bifidum* (T1= 1:1, T2 = 2:1 dan T3 = 1:2). Faktor II adalah lama penyimpanan es krim yaitu 10, 20 dan 30 hari. Data diolah dengan analisis ragam, jika terdapat pengaruh nyata dilanjutkan Uji Wilayah Ganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi antara perbandingan starter dan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas BAL, keasaman maupun waktu pelelehan es krim. Perbandingan starter berpengaruh nyata terhadap viabilitas BAL dan keasaman tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap waktu pelelehan es krim. Lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap viabilitas BAL, keasaman dan waktu pelelehan es krim. Kesimpulan penelitian adalah perbandingan *L.casei* dan *B. bifidum* 1:2 (T2) merupakan kombinasi terbaik ditinjau dari viabilitas BAL dan keasaman. Semakin lama penyimpanan viabilitas BAL semakin menurun dan waktu pelelehan semakin lama.

Kata kunci : Es krim, Probiotik , Viabilitas BAL, Keasaman, Waktu pelelehan

ABSTRACT

This research was carried out to investigate the effect of combination of starter, storage time and the interaction between both factors on viability of LAB, acidity and melting time of pro-biotic ice cream. The Design of experiment used was Randomized Completely Block Design (RCBD) with factorial pattern (3x3x4). The mean differences were tested by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The first factor was the combination of *L casei* and *B. bifidum* (T1= 1:1, T2 = 2:1 and T3 = 1:2). The second factor was the storage times (10, 20 and 30 days). The results showed that the combination of starter affected significantly on viability of LAB, and acidity but did not affect on melting time. The storage time affected significantly on viability of LAB, acidity and melting time. The interaction between both factors did not affect on viability, acidity and melting time. The conclusion of this research was that the combination of *l. casei* and *B. bifidum* 1:2 had highest viability of LAB on pro-biotic ice cream. The more length of storage time decreased viability of LAB and acidity, but it increased melting time of pro-biotic ice cream.

Keywords: Ice Cream, Pro-Biotic, Viability Of LAB, Acidity, Melting Time

PENDAHULUAN

Dewasa ini produk probiotik sangat gencar dipromosikan sebagai makanan fungsional yang bermanfaat untuk kesehatan. Menurut Havenaar dan Veld (1992) probiotik adalah mikroorganisme hidup baik dalam bentuk tunggal atau campuran yang ditambahkan dalam bahan pangan dengan tujuan untuk memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan sistem pencernaan. Salah satu kelompok bakteri yang banyak digunakan sebagai probiotik yaitu kelompok BAL (Bakteri Asam Laktat), namun demikian tidak semua BAL dapat berperan sebagai probiotik. Bakteri probiotik yang digunakan dalam penelitian yaitu *L. casei* strain Shirota dan *B. bifidum*. Keduanya merupakan BAL yang telah teruji secara klinis dapat hidup dengan baik di saluran pencernaan. Keduanya juga merupakan genus BAL yang memiliki kaitan erat dengan kesehatan sistem pencernaan manusia.

L. casei strain Shirota berasal dari genus *Lactobacillus*, memiliki kemampuan bertahan dari kondisi asam lambung maupun rendahnya tegangan permukaan cairan empedu sehingga mampu hidup sampai di usus besar. BAL tersebut meningkatkan aktivitas bakteri normal dan bakteri berguna lainnya, menyerap bahan-bahan berbahaya, menghambat dan membunuh bakteri patogen serta memiliki efek anti tumor yang lebih kuat dibandingkan bakteri lainnya (Widodo, 2003). Keuntungan yang diberikan oleh *Bifidobacterium* terhadap kesehatan antara lain mengurangi kadar kolesterol dalam serum dan memiliki aktifitas antikarsinogenik (Dinakar dan Mistry, 1994). *B. bifidum* dan *L. casei* dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan karena bakteri probiotik tersebut dapat mengurai laktosa. Selain itu *B. bifidum* sangat baik untuk meningkatkan respon kekebalan tubuh dan menghambat enzim yang berbahaya. Selain itu (Brady, *et.al.*, 2000). Asam laktat yang dihasilkan oleh *L. casei* strain Shirota mampu memacu pertumbuhan *B. bifidum* (Widodo, 2003), sehingga dengan alasan tersebut maka keduanya dikombinasikan.

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa, es krim yang diperkaya dengan BAL (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) masih mempunyai kandungan BAL sebanyak $22,1 \times 10^8$ sel/ml dan secara umum kualitas es krim memenuhi Standar Industri Nasional 01-3713-95. Bahkan setelah

disimpan beku selama satu bulan rata-rata viabilitas BAL masih tinggi yaitu 6.15×10^8 sel/ml (Mulyani *et al.*, 2006). Angka tersebut masih memenuhi standar internasional untuk minuman probiotik yaitu minimal 10^7 sel/ml (Davidson *et al.*, 2000).

Penggunaan *B. bifidum* dan *L. casei* sebagai starter dalam pembuatan es krim belum pernah dilakukan. Oleh karena itu perlu diketahui seberapa besar perbandingan yang sesuai untuk menghasilkan es krim probiotik yang baik dengan jumlah BAL yang masih cukup tinggi pada saat dikonsumsi. Selain itu selama distribusi dan *display* biasanya es krim dikondisikan dalam penyimpanan beku selama beberapa waktu. Penyimpanan beku minimal (-10°C - (-18°C) bukan merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan BAL, sehingga diduga selama penyimpanan jumlah BAL akan menurun. Penurunan jumlah BAL akan berpengaruh terhadap komposisi adonan es krim ataupun produk metabolitnya seperti asam laktat, sehingga akan berpengaruh terhadap sifat es krim yang lain misalnya waktu pelelehan es krim. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi antara perbandingan starter dan lama penyimpanan beku terhadap viabilitas BAL, keasaman dan waktu pelelehan es krim. Manfaat dari penelitian adalah menemukan perbandingan starter yang ideal dan perubahan viabilitas, keasaman serta waktu pelelehan selama penyimpanan satu bulan.

MATERI DAN METODE

Materi dan Metode

Bahan-bahan yang digunakan adalah *whipping cream*, susu skim bubuk, pisang raja, kuning telur, gula pasir, *Carboxyl Methyl Cellulose* (CMC), aquades, *starter culture L. casei* dan *B. bifidum*, *de Man Ragosa and Sharpe* (MRS), alkohol 70%, agar dan spirtus. Peralatan yang digunakan meliputi *ice cream maker*, tabung reaksi, gelas ukur, cawan petri, pipet ukur, blender, panci, oven, kompor gas, inkubator, autoklaf, dan pH meter elektronik

Pembuatan es krim sesuai dengan penelitian sebelumnya (Mulyani *et.al.*, 2006) meliputi pasteurisasi adonan es krim 80°C selama 15 menit, pendinginan 39-41°C, inokulasi starter 4%, inkubasi 4 jam pada suhu 41°C dilanjutkan dengan pembekuan dalam *es cream maker*. Setelah es krim jadi dilakukan pengujian variabel penelitian dan penyimpanan beku

selama 30 hari. Variabel yang diamati meliputi viabilitas BAL, keasaman dan waktu pelelehan.

Viabilitas BAL diamati berdasarkan Metode *Standart Plate Count* (Lahtinen *et.al.*, 2005). Nilai keasaman diukur menggunakan Metode *Man's Acid test* (Lau *et.al.*, 1989; Drake *et.al.*, 2000). Waktu pelelehan dihitung berdasarkan petunjuk Hubeis (1995), bahwa waktu pelelehan adalah waktu yang dibutuhkan es krim untuk meleleh sempurna pada suhu kamar dengan sampel sebanyak 2 g.

Analisis Data

Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor dan 4 ulangan yaitu faktor pertama perbandingan starter *L. casei* strain Shirota : *B. bifidum* (1 : 1, 1 : 2, 2 : 1). Faktor kedua adalah lama penyimpanan (10, 20 dan 30 hari). Data dianalisis dengan analisis ragam, apabila terdapat pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Steel dan Torri, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas BAL

Berdasarkan hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara perbandingan starter dan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap viabilitas BAL. Hal ini berarti bahwa pengaruh perbandingan starter tidak tergantung pada lama penyimpanan, dan sebaliknya lama penyimpanan tidak tergantung pada perbandingan starter yang digunakan. Pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas BAL tidak dipengaruhi oleh perbandingan starter yang digunakan

karena selama masa penyimpanan total BAL selalu mengalami penurunan berapapun perbandingan starter yang digunakan. Es krim yang menggunakan perbandingan *L. casei* : *B. bifidum* 1:2 memiliki total BAL yang tertinggi (Tabel 1). Menurut Heller (2001) interaksi yang terjadi dalam fermentasi susu adalah interaksi antara probiotik dan starter, baik efek sinergis maupun antagonis yang terjadi karena penggunaan starter yang berbeda.

Perlakuan lama penyimpanan dan perbandingan starter menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap viabilitas BAL. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan baik pada lama penyimpanan maupun perbandingan starter yang berbeda (Tabel 1). Selama masa penyimpanan terjadi penurunan total BAL rata-rata 1 log (CFU/ml) setiap 10 hari penyimpanan beku. Penurunan total BAL tersebut dikarenakan terbentuknya kristal es selama penyimpanan beku. Menurut Nurwantoro dan Djariah (1997), semakin besar perbedaan suhu penyimpanan dengan suhu pertumbuhan optimal, maka kecepatan pertumbuhannya menjadi lambat dan akhirnya akan terhenti sama sekali. Menurut Dodd dan Gasson (1994) penurunan viabilitas juga dapat terjadi karena adanya efek antimikroba dari diasetil, asam asetat, dan asam laktat yang muncul di dalam produk dan terkadang disebabkan adanya bakteriosin.

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa perbandingan starter 1: 2 mempunyai viabilitas BAL yang tertinggi, disusul perbandingan starter 1:1 dan yang terendah 2:1. Berdasarkan hasil tersebut, perbandingan starter dengan proporsi *B. bifidum* lebih besar akan menghasilkan total BAL yang lebih banyak. Artinya *B. bifidum* mempunyai daya tahan hidup yang lebih baik pada suhu pembekuan dibandingkan *L. casei*.

Tabel 1. Total BAL Es Krim Probiotik dengan Perbandingan Starter dan Lama Penyimpanan yang Berbeda

Perbandingan Starter (<i>L. casei</i> : <i>B. Bifidum</i>)	Lama Penyimpanan			Rerata
	10 hari	20 hari	30 hari	
	------(CFU/ml)-----			
1:1	$1,5 \times 10^{10}$	$1,3 \times 10^9$	$1,1 \times 10^8$	$5,5 \times 10^{9a}$
1:2	$1,4 \times 10^{11}$	$7,6 \times 10^9$	$6,4 \times 10^8$	$8,9 \times 10^{9b}$
2:1	$1,7 \times 10^9$	$2,3 \times 10^8$	$3,3 \times 10^7$	$2,3 \times 10^{8c}$
Rerata	$1,5 \times 10^{10A}$	$1,3 \times 10^{9B}$	$1,3 \times 10^{8C}$	

Keterangan : - Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$)
 - Superskrip huruf besar yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$)

Hekmat dan McMohan (1992) melaporkan bahwa *Bifidobacterium* di dalam es krim yang disimpan beku lebih dari 70 hari 90% bakteri tersebut ditemukan masih dalam keadaan hidup. Selanjutnya disebutkan bahwa es krim merupakan kendaraan yang paling sesuai untuk mengangkut *Bifidobacterium* ke dalam tubuh manusia.

Tingginya total BAL dengan perbandingan *B. bifidum* lebih besar juga dimungkinkan karena *L.casei* cenderung kurang toleran terhadap adonan es krim (kadar lemak relatif tinggi). Hal tersebut didukung oleh data total BAL pada adonan es krim dengan perbandingan 2:1 (*L.casei* : *B. bifidum*) setelah inkubasi dan penyimpanan 1 hari menunjukkan total BAL $3,0 \times 10^9$ dan $5,0 \times 10^8$ cfu/ml, sedangkan pada perbandingan 1:1 sebesar $4,5 \times 10^{10}$ dan $4,2 \times 10^{10}$ cfu/ml, dan perbandingan starter 1 : 2 sebesar $6,0 \times 10^{10}$ dan $4,6 \times 10^{10}$ cfu/ml. Data tersebut menunjukkan bahwa, sebelum mengalami penyimpanan beku es krim dengan proporsi *L.casei* semakin tinggi mempunyai total BAL semakin rendah. Hal ini disebabkan habitat asli *L. casei* adalah susu skim. Es krim probiotik dengan perbandingan starter 1:2 (*L.casei* dan *B. bifidum*) menghasilkan total BAL paling tinggi, yaitu $6,4 \times 10^8$ - $1,4 \times 10^{11}$ cfu/ml. Jumlah tersebut telah memenuhi standar internasional untuk minuman probiotik yaitu minimal 10^7 cfu/ml dengan jumlah konsumsi rata-rata 100 ml per hari (Davidson *et.al*, 2000)

Keasaman

Nilai keasaman es krim diamati berdasarkan persentase asam setara asam laktat. Berdasarkan hasil analisis ragam, interaksi antara perbandingan

starter dan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ($P>0.05$) terhadap nilai keasaman es krim probiotik. Artinya pengaruh perbandingan starter terhadap keasaman es krim tidak tergantung pada lama penyimpanan, demikian pula sebaliknya. Perlakuan lama penyimpanan dan perbandingan starter berpengaruh nyata ($P<0.05$) terhadap keasaman es krim.

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa penggunaan starter dengan perbandingan 1:1 menghasilkan kadar asam laktat yang tidak berbeda nyata dibandingkan penggunaan starter 1:2., sedangkan penggunaan starter dengan perbandingan 2:1 menghasilkan kadar asam laktat terendah dan berbeda nyata dengan perbandingan starter 1:1 maupun 1:2. Hal ini didukung oleh data total BAL dalam es krim probiotik seperti pada Tabel 1. Pada perbandingan starter 1:2 (*L.casei* dan *B.bifidum*) dihasilkan jumlah BAL tertinggi. Semakin banyak jumlah BAL dalam es krim, maka kadar asam laktatnya akan semakin tinggi. Peningkatan kadar asam laktat disebabkan adanya aktivitas BAL yang memecah laktosa dan sukrosa menjadi asam laktat. Kadar asam menurun seiring dengan menurunnya aktivitas bakteri, ditandai dengan semakin berkurangnya jumlah BAL yang masih hidup (beraktivitas). Menurut Deis (2000) selama proses fermentasi populasi BAL akan meningkat seiring meningkatnya produksi asam yang berasal dari pemecahan laktosa.

Lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap keasaman es krim. Semakin lama penyimpanan beku, maka kadar asam laktat cenderung menurun. Hal itu disebabkan jumlah BAL semakin menurun seiring

Tabel 2. Kadar Asam Laktat Es Krim Probiotik dengan Perbandingan Starter dan Lama Penyimpanan yang Berbeda

Perbandingan Starter (<i>L.casei</i> : <i>B. Bifidum</i>)	Lama Penyimpanan			Rerata
	10 hari	20 hari	30 hari	
	----- (%) -----			
1:1	0,24	0,23	0,21	0,23 ^a
1:2	0,25	0,24	0,22	0,24 ^a
2:1	0,21	0,19	0,18	0,19 ^b
Rerata	0,23 ^A	0,22 ^B	0,20 ^B	

Keterangan : - Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0.05$)
 - Superskrip huruf besar yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0.05$)

lamanya penyimpanan. Menurut Frazier dan Westhoff (1988) selama masa penyimpanan beku, terdapat dua kemungkinan yang terjadi pada BAL. Pertama, bakteri tersebut dorman dan yang kedua, bakteri tersebut mati karena kerusakan fisik yang disebabkan oleh kristal-kristal es. Menurut Widodo (2003) pertumbuhan BAL pada umumnya berpengaruh terhadap keasaman pangan. Es krim probiotik dengan perbandingan starter 1:2 menghasilkan kadar asam laktat paling tinggi yaitu 0,25% dan selama penyimpanan beku cenderung terjadi penurunan kadar asam laktat sebesar 0,01% setiap 10 hari.

bahan pemanis es krim, khususnya laktosa dan sukrosa. Menurut Padaga dan Sawitri (2005), laktosa dapat menahan titik beku supaya es krim supaya tidak cepat meleleh terutama setelah disimpan pada temperatur sangat rendah yaitu -15° hingga -18°C . Selain itu semakin lama penyimpanan beku, viabilitas BAL dan aktivitasnya semakin menurun, sehingga penguraian laktosa dan sukrosa semakin berkurang.

KESIMPULAN

Perbandingan starter 1:2 (*L.casei* dan *B.bifidum*) menghasilkan viabilitas BAL dan kadar asam laktat paling baik (tinggi) pada es krim probiotik. Semakin

Tabel 3. Waktu Pelelehan Es Krim Probiotik dengan Perbandingan Starter dan Lama Penyimpanan yang Berbeda

Perbandingan Starter (<i>L.casei</i> : <i>B. Bifidum</i>)	Lama Penyimpanan			Rerata ^{ns}
	10 hari	20 hari	30 hari	
	------(menit)-----			
1:1	6,85	8,49	10,30	8,55
1:2	7,08	10,32	10,31	9,24
2:1	8,30	9,09	9,59	8,99
Rerata	7,41 ^a	9,3 ^b	10,07 ^b	

Keterangan : Superskrip huruf kecil yang berbeda pada baris rerata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0.05$)

^{ns} = nonsignificant= tidak berpengaruh nyata ($P>0.05$)

Waktu Pelelehan

Rata-rata waktu pelelehan es krim antara 7,41-10,07 menit. Rendahnya waktu pelelehan tersebut disebabkan terdapat perombakan bahan padat yaitu laktosa dan sukrosa oleh BAL. Waktu pelelehan tersebut secara umum belum memenuhi standar kualitas es krim yang baik. Menurut Flores *et.al* (1992), waktu pelelehan yang baik berkisar antara 10-15 menit. Semakin cepat leleh es krim akan cenderung tidak disukai oleh konsumen.

Berdasarkan hasil analisis ragam, interaksi antara perbandingan starter dan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ($P>0.05$) terhadap waktu pelelehan es krim probiotik. Artinya pengaruh perbandingan starter terhadap waktu pelelehan es krim tidak tergantung pada lama penyimpanan, demikian pula sebaliknya. Perlakuan perbandingan starter juga tidak berpengaruh nyata ($P>0.05$) terhadap waktu pelelehan es krim, namun lama penyimpanan berpengaruh nyata ($P<0.05$) terhadap waktu pelelehan es krim. Semakin lama penyimpanan beku, waktu pelelehan semakin lama karena peranan dari

lama penyimpanan viabilitas BAL semakin menurun, keasaman semakin berkurang dan waktu pelelehan semakin lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Brady,L., D.D. Gallaher and F.F. Busta. 2000. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J. Nutr.* 130 ; 410S-414S.
- Davidson, R.H., S.E. Duncan, C.R. Hackney, W.N. Eigel and J.W. Boling. 2000. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristic. *J. Dairy Sci* 83 : 666-673
- Deis, R. C. 2000. New Directions for Cultured Dairy Products. Northbrook, Illinois (www.foodproductdesign.com).
- Dinakar, P and V. V. Mistry. 1994. Growth and Viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar Cheese. *J. Dairy Sci.* 77 (10) : 2854 – 2864.
- Dodd, H. M and M. J. Gasson. 1994. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Blakie Acad. Profess Public. London.

- Drake, M.A., X.Q. Chen, T. Tamarapu and B. Leenanon. 2000. Soy protein fortification affects sensory, chemical and microbiological properties of dairy yogurts. *J. Food Sci.* 65 (7) : 1244 : 1247.
- Flores, R.J., N.J. Kliptel and J. Tobias. 1992. Ice Cream and Frozen Dessert. In : Y.H. Hui. 1993. Dairy Science and Technology Handbook 1. Principles and Properties. VCH Publisher Inc., New York.
- Frazier, W.C and D.C. Westhoff. 1988. Food Microbiology. 4th Edition. McGraw Hill Book Co., Singapore.
- Havenaar, R. and Veld, H. 1992. Probiotic : a General View. In : Word, B.J.b. (Eds), 1992. The lactic acid bacteria in health and disease. Elsevier Appl. Sci. London. Vol. 7 :151-170
- Hekmat, S., and D. J. McMahon. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J. Dairy Sci.* 75: 1415-1422.
- Heller, K. J. 2001. Probiotics Bacteria in Food Fermented Products: product characteristic and starter organisms. *American J. of Clinical Nutrition.* 73 : 374-379.
- Hubeis, M. 1995. Paket industri pangan es krim ekonomi skala kecil. *Buletin Teknologi Industri Pangan.* Institut Pertanian Bogor Vol. VII (1) : 200- 300.
- Lahtinen, S.P., M. Guimonde, A.C. Ouwhend, J.P. Reinikainen, dan S.J. Salminen. 2005. Comparison of Four Methods to Enumerate Probiotic Bifidobacteria in Fermented Food Product. Department of Food Chemistry and Biochemistry, University of Turku, Finland.
- Lau, K.Y., D.M.Barbano and R.E.Rasmussen. 1989. Influence of Pasteurized of Milk on Protein breakdown in cheddar cheese during aging. *J. Dairy Sci.* 74 : 727-740
- Mulyani, S., Nurwantoro dan Maqfiroh. 2006. Prospek es Krim Fermentasi Sebagai Makanan Fungsional. Prosiding Seminar Nasional 2006 Pemberdayaan Masyarakat Peternakan Di Bidang Agribisnis untuk Mendukung Ketahanan Pangan. Fakultas Peternakan – Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang tanggal 3 agustus 2006.
- Nurwantoro dan A. S. Djarijah. 1997. Mikrobiologi Pangan Hewani-Nabati. Kanisius, Yogyakarta.
- Padaga, M dan M.E. Sawitri. 2005. Membuat Es Krim sehat. Trubus Agrisarana, Surabaya.
- SNI. 1995. 01 – 3713 – 1995. Es Krim. Dewan Standarisasi Indonesia, DSN, Jakarta..
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie.1992. Prinsip dan Prosedur Statistika. Gramedia. Jakarta. Diterjemahkan oleh B. Sumantri.
- Widodo. 2003. Bioteknologi Industri Susu. Lakticia Press, Yogyakarta.