

## Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Tapai Singkong (*Manihot esculenta*) dan Evaluasi Bioaktivitas Serotonergiknya sebagai Potensi Antidepresan menggunakan ELISA

### *Isolation of Lactic Acid Bacteria from Cassava Tapai (Manihot esculenta) and Evaluation of Serotonergic Activity for Potential Antidepressant using ELISA*

Sabrina Hurriya Dini<sup>1</sup>, Desi Purwaningsih<sup>2\*</sup>, Abdul Kolib<sup>3</sup>, Tiwuk Susantiningsih<sup>4</sup>

<sup>1,3,4</sup>Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Jakarta, Indonesia

Email: [desi.purwaningsih@upnvj.ac.id](mailto:desi.purwaningsih@upnvj.ac.id)

#### Abstrak

**Latar Belakang:** Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang ditemukan pada pangan fermentasi dan berpotensi menghasilkan metabolit bioaktif yang berkaitan dengan gut-brain axis. Tapai singkong merupakan pangan fermentasi tradisional yang berpotensi menjadi sumber BAL dengan aktivitas serotonergik. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dari tapai singkong serta mengevaluasi aktivitas serotonergiknya sebagai potensi antidepresan menggunakan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). **Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium dilakukan secara in vitro. BAL diisolasi menggunakan media de Man-Rogosa-Sharpe Agar (MRSA) dan diidentifikasi berdasarkan morfologi koloni, pewarnaan Gram, serta uji katalase. Enam isolat dikultur dalam de Man-Rogosa-Sharpe Broth (MRSB), kemudian supernatannya dianalisis menggunakan ELISA serotonin pada panjang gelombang 450 nm. Data dianalisis menggunakan Welch's t-test. **Hasil:** Diperoleh enam isolat BAL, yaitu B1A, B2A, B3A, B4B, B5B, dan B6B, dengan karakteristik Gram positif, berbentuk basil dan kokobasil, serta katalase negatif. Seluruh isolat menunjukkan penurunan pH media dari 6 menjadi 4. Kadar serotonin kelompok isolat berkisar 10,903–33,952 ng/mL, sedangkan kontrol 0,195–2,210 ng/mL. Rerata kadar serotonin kelompok isolat ( $21,47 \pm 9,59$  ng/mL) lebih tinggi dibandingkan kontrol ( $1,23 \pm 1,01$  ng/mL), dengan perbedaan yang signifikan secara statistik ( $p = 0,0033$ ). **Kesimpulan:** Isolat BAL dari tapai singkong menunjukkan peningkatan kadar serotonin terukur secara in vitro dibandingkan kontrol, sehingga berpotensi untuk diteliti lebih lanjut terkait aktivitas serotonergik dan pengembangan kandidat antidepresan.

**Kata kunci:** Bakteri Asam Laktat; Tapai Singkong; Serotonin; Antidepresan; ELISA.

#### Abstract

**Background:** Lactic acid bacteria (LAB) are microorganisms found in fermented foods and have the potential to produce bioactive metabolites associated with the gut-brain axis. Cassava tapai is a traditional fermented food that may serve as a source of LAB with serotonergic activity. **Aim:** This study aimed to isolate and identify LAB from cassava tapai and evaluate their serotonergic activity as a potential antidepressant using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). **Methods:** A laboratory experimental study was conducted in vitro. LAB were isolated from cassava tapai using de Man-Rogosa-Sharpe Agar and identified based on colony morphology, Gram staining, and catalase testing. Six isolates were subsequently cultured in de Man-Rogosa-Sharpe Broth, and the supernatants were analyzed using a serotonin ELISA at 450 nm. Statistical analysis was performed using Welch's t-test. **Result:** The results show that six LAB isolates, B1A, B2A, B3A, B4B, B5B, and B6B, exhibit Gram-positive, bacillary and coccobacillary morphology and negative catalase reactions. All isolates show a decrease in medium pH from 6 to 4 after incubation. Serotonin levels in the isolate group range from 10.903 to 33.952 ng/mL, whereas the control ranges from 0.195 to 2.210 ng/mL. The mean serotonin level in the isolate group is  $21.47 \pm 9.59$  ng/mL, higher than the control at  $1.23 \pm 1.01$  ng/mL, with a significant difference ( $p=0.0033$ ). **Conclusion:** LAB isolates from cassava tapai show serotonergic activity in vitro and have potential for further investigation regarding antidepressant activity.

**Keywords:** Lactic Acid Bacteria; Cassava Tapai; Serotonin; Antidepressant; ELISA.

\*Corresponding author: Desi Purwaningsih, Program Studi Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Jakarta, Indonesia

E-mail : [desi.purwaningsih@upnvj.ac.id](mailto:desi.purwaningsih@upnvj.ac.id)

Doi : 10.35451/jfm.v9i1.3996

Received : September 30, 2026, Accepted: October 30, 2026, Published: October 30, 2026

Copyright: © 2026 Desi Purwaningsih (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

## 1. PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif yang banyak ditemukan pada berbagai produk fermentasi dan memiliki kemampuan menghasilkan asam laktat serta berbagai metabolit bioaktif. Selain berperan dalam proses fermentasi dan menjaga keseimbangan mikrobiota usus, BAL juga berpotensi memberikan manfaat kesehatan melalui interaksinya dalam *gut-brain axis*, yaitu hubungan dua arah antara saluran pencernaan dan sistem saraf pusat. Beberapa mikroorganisme diketahui mampu menghasilkan atau memodulasi senyawa neuroaktif yang berperan dalam komunikasi antara mikrobiota dan sistem [1]. Salah satu senyawa yang berkaitan dengan mekanisme tersebut adalah serotonin (*5-hydroxytryptamine/5-HT*), yaitu neurotransmiter yang berperan dalam regulasi suasana hati, tidur, nafsu makan, dan fungsi kognitif. Gangguan sistem serotonergik diketahui berkaitan dengan gangguan neuropsikiatri, termasuk depresi, sehingga sistem serotonin menjadi salah satu target dalam mekanisme kerja berbagai obat antidepresan [2-3].

Pangan fermentasi merupakan salah satu sumber mikroorganisme yang berpotensi memberikan aktivitas biologis tersebut [4]. Tapai singkong merupakan pangan fermentasi tradisional Indonesia yang mengandung berbagai mikroorganisme, termasuk BAL, yang berperan dalam proses fermentasi [4]. BAL dapat menghasilkan berbagai metabolit selama pertumbuhan dan fermentasi, sehingga keberadaannya pada pangan fermentasi berpotensi dikaji dalam konteks psikobiotik dan *gut-brain axis* [5]. Lalu, mengingat banyaknya bakteri asam laktat dan *bifidobacteria* di usus, bakteri-bakteri tersebut secara teoritis berpotensi memengaruhi suasana hati dan perilaku melalui peningkatan produksi serotonin usus yang dipicu oleh ketersediaan triptofan. Sejalan dengan hal tersebut, peningkatan kadar serotonin yang terdeteksi pada isolat BAL dibandingkan kontrol dapat memberikan informasi awal mengenai aktivitas serotonergiknya yang berkaitan dengan potensi efek antidepresan. Penelitian sebelumnya telah melaporkan keberadaan BAL pada tapai singkong dan menunjukkan karakteristik fenotipik yang sesuai dengan BAL, seperti Gram positif dan katalase negatif [6-8]. Namun, penelitian mengenai aktivitas serotonergik BAL yang diisolasi dari tapai singkong masih terbatas. Beberapa penelitian mengenai pangan fermentasi dan psikobiotik menunjukkan bahwa mikroorganisme tertentu berpotensi berperan dalam kesehatan mental melalui produksi atau modulasi neurotransmiter, tetapi aktivitas tersebut perlu dikaji secara lebih spesifik pada isolat BAL dari tapai singkong [6][8]. Oleh karena itu, pengukuran kadar serotonin diperlukan untuk mengetahui adanya aktivitas serotonergik pada isolat yang diperoleh.

*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengukur kadar serotonin secara kuantitatif melalui pengukuran absorbansi pada 450 nm yang kemudian dikonversi menjadi konsentrasi berdasarkan kurva standar [9] [9]. Dalam penelitian ini, BAL diisolasi dari tapai singkong dan diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologi koloni, meliputi bentuk, permukaan, tepi, dan warna koloni [10]. Juga berdasarkan pewarnaan Gram, serta uji katalase. Isolat yang diperoleh kemudian dikultur dalam media *de Man-Rogosa-Sharpe Broth* (MRSB) dan kadar serotonin pada supernatan dianalisis menggunakan ELISA. Peningkatan kadar serotonin yang terdeteksi pada isolat BAL dibandingkan kontrol dapat memberikan informasi awal mengenai aktivitas serotonergiknya yang berkaitan dengan potensi antidepresan [10][11]. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dari tapai singkong serta mengevaluasi aktivitas serotonergiknya berdasarkan kadar serotonin menggunakan metode ELISA sebagai dasar awal untuk mengkaji potensi antidepresannya.

Serotonin (*5-hidroksitriptamin* atau *5-HT*) merupakan neurotransmiter yang berperan dalam regulasi suasana hati, fungsi gastrointestinal, dan berbagai proses fisiologis. Sebagian besar serotonin tubuh diproduksi di saluran pencernaan, tetapi serotonin perifer tidak dapat secara langsung melintasi sawar darah otak. Oleh karena itu, hubungan antara BAL, serotonin, dan kesehatan mental melibatkan mekanisme biologis yang kompleks dan tidak dapat dijelaskan hanya berdasarkan peningkatan kadar serotonin. Penelitian sebelumnya telah melaporkan keberadaan BAL pada tapai singkong dengan karakteristik fenotipik berupa bakteri Gram positif dan katalase negatif [6-7]. Meskipun berbagai penelitian telah mengkaji hubungan mikrobiota usus dengan metabolisme serotonin dan kesehatan mental, penelitian yang secara khusus mengevaluasi kadar serotonin pada supernatan kultur BAL hasil isolasi tapai singkong masih terbatas [8]. Kesenjangan tersebut menjadi dasar perlunya

penelitian untuk memperoleh informasi awal mengenai keberadaan serotonin yang terdeteksi pada kultur BAL, tanpa menginterpretasikannya secara langsung sebagai bukti aktivitas antidepresan.

Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dipilih karena memungkinkan pengukuran serotonin secara kuantitatif berdasarkan reaksi imunologis yang spesifik, dengan sensitivitas dan rentang pengukuran yang bergantung pada karakteristik kit yang digunakan. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm dilakukan sesuai prosedur kit, kemudian hasilnya dikonversi menjadi konsentrasi menggunakan kurva standar [9]. Dalam penelitian ini, BAL diisolasi dari tapai singkong dan dikarakterisasi berdasarkan morfologi koloni, meliputi bentuk, permukaan, tepi, dan warna koloni, serta melalui pewarnaan Gram dan uji katalase [10]. Isolat selanjutnya dikultur dalam media *de Man-Rogosa-Sharpe Broth* (MRSB), kemudian kadar serotonin pada supernatan kultur diukur menggunakan ELISA. Perbandingan kadar serotonin antara kultur BAL dan kontrol media dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan kadar serotonin yang terdeteksi. Hasil pengukuran tersebut merupakan data awal yang belum dapat memastikan bahwa serotonin disintesis oleh BAL maupun membuktikan adanya efek antidepresan, sehingga diperlukan penelitian lanjutan melalui identifikasi molekuler, analisis jalur biosintesis, serta pengujian biologis yang relevan [11].

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL dari tapai singkong berdasarkan karakteristik morfologi dan uji biokimia sederhana, serta mengukur dan membandingkan kadar serotonin pada supernatan kultur BAL dengan kontrol media menggunakan metode ELISA. Hasil penelitian diharapkan memberikan informasi awal mengenai serotonin yang terdeteksi pada kultur BAL sebagai dasar penelitian lebih lanjut terkait metabolisme neurotransmitter dan potensi psikobiotik.

## 2. METODE

### Bahan

Tapai singkong (*Manihot esculenta*) yang diperoleh dari Viekamart Official di Tangerang Selatan melalui platform Shopee, NaCl 0,85%, *de Man-Rogosa-Sharpe Agar* (MRSA) dengan penambahan 1% CaCO<sub>3</sub> dan nystatin, *de Man-Rogosa-Sharpe Broth* (MRSB), reagen pewarnaan Gram, hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3%, aquades, deterjen, serta General 5-Hydroxytryptamine (5-HT) ELISA Kit (ABclonal Technology, Catalog No. RK09044).

### Alat

Alat yang digunakan meliputi laminar air flow (LAF), inkubator, autoklaf, *vortex mixer*, sentrifus, mikropipet, mikroskop, cawan petri, tabung reaksi, ose, dan EZ Read 400 Microplate Reader (biochrom). Microplate reader digunakan untuk membaca absorbansi pada pemeriksaan ELISA. Perhitungan data dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Graphpad Prism* 11.

### Prosedur

#### Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang digunakan dibersihkan menggunakan deterjen dan dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Alat kemudian dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas putih. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit [12][11].

#### Isolasi bakteri asam laktat

Sebanyak 10 g tapai singkong dihaluskan dan dilarutkan dalam 90 mL NaCl 0,85%, kemudian dihomogenkan. Suspensi dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10<sup>-6</sup>. Sebanyak 0,2 mL suspensi hasil pengenceran diinokulasikan pada media MRSA yang telah ditambahkan 1% CaCO<sub>3</sub> dan nystatin [6][7]. Media kemudian diinkubasi secara anaerob menggunakan metode *candle jar* pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Koloni yang tumbuh dan menunjukkan karakteristik BAL dimurnikan dengan metode *streak plate* menggunakan ose steril pada media MRSA baru, kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 48 jam [13].

#### Identifikasi bakteri asam laktat

Identifikasi isolat dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni yang ditumbuhkan pada media padat MRSA, pewarnaan Gram, dan uji katalase. Morfologi koloni diamati berdasarkan bentuk, warna, elevasi, dan tepian koloni. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat apusan kultur pada kaca objek, kemudian difiksasi dan diwarnai menggunakan *crystal violet*, iodine, dekolorizer berbasis etanol-aseton, dan *basic fuchsin* [14]. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop. Uji katalase dilakukan dengan meneteskan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% pada isolat. Tidak terbentuknya gelembung menunjukkan hasil katalase negatif [13].

#### Fermentasi isolat

Isolat BAL murni dipindahkan ke media MRSB dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Fermentasi dilakukan menggunakan media dengan volume 50 mL. Setelah fermentasi, sebanyak ±5–10 mL kultur diambil dan disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh supernatan yang digunakan pada analisis kadar serotonin [15-16].

#### Uji kadar serotonin menggunakan ELISA

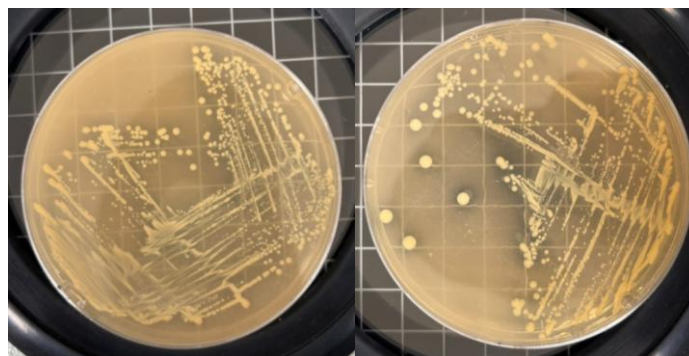
Kadar serotonin dianalisis menggunakan General 5-Hydroxytryptamine (5-HT) ELISA Kit (ABclonal Technology, Catalog No. RK09044) dengan prinsip kompetitif. Prosedur yang digunakan mengikuti protokol yang diberikan oleh ELISA Kit ABclonal Technology, Catalog No. RK09044. Supernatan hasil fermentasi digunakan sebagai sampel. Sebanyak 50 µL standar ditambahkan ke setiap *well*, kemudian ditambahkan 50 µL *Working Biotin-Conjugate Antigen*. Campuran diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dan dicuci sebanyak tiga kali. Selanjutnya, 100 µL *Working Streptavidin-HRP* ditambahkan dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C, kemudian dicuci sebanyak lima kali. Sebanyak 90 µL *Substrate Solution* ditambahkan dan diinkubasi selama 15–20 menit pada suhu 37°C dalam kondisi terlindung dari cahaya. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 µL *Stop Solution*. Absorbansi dibaca dalam waktu maksimal 5 menit pada panjang gelombang 450 nm menggunakan EZ Read 400 Microplate Reader (biochrom). Kadar serotonin ditentukan berdasarkan kurva standar dengan regresi nonlinier 4-Parameter Logistic (4PL) [16].

#### Analisis data

Data kadar serotonin dianalisis menggunakan *GraphPad Prism* 11. Normalitas data diuji menggunakan *Shapiro-Wilk test*, sedangkan kesamaan varians diuji menggunakan *F-test for comparison of variances*. Perbedaan kadar serotonin antara kelompok isolat BAL dan kontrol MRSB dianalisis menggunakan *Welch's t-test*. Nilai  $p < 0,05$  dianggap menunjukkan perbedaan yang bermakna.

### 3. HASIL

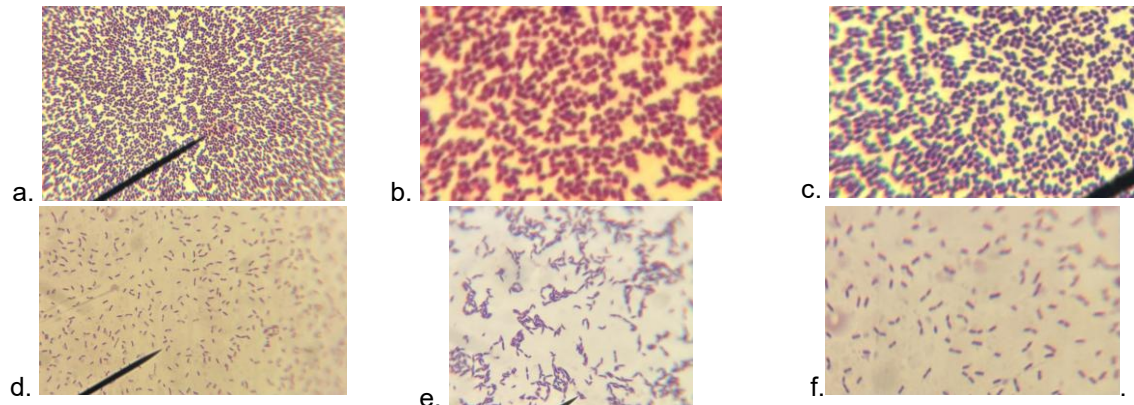
Hasil penelitian diawali dengan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari tapai singkong. Diperoleh enam isolat yang diberi kode B1A, B2A, B3A, B4B, B5B, dan B6B. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki karakteristik berbentuk bulat, berwarna putih, dan memiliki tepian rata dan elevasi cembung, juga bersifat Gram positif, berbentuk basil atau kokobasil, dan memberikan hasil negatif pada uji katalase.



Gambar 1. Koloni BAL ditunjukkan dengan Penampakan Zona Bening di sekitarnya pada media MRSA dengan CaCO<sub>3</sub>

Tabel 1. Identifikasi BAL dari Tapai Singkong

| Isolat | Morfologi Koloni |       |         |        | Pewarnaan Gram |           | Uji Katalase |
|--------|------------------|-------|---------|--------|----------------|-----------|--------------|
|        | Bentuk           | Warna | Elevasi | Tepian | Warna          | Bentuk    |              |
| B1A    | Bulat            | Putih | Cembung | Rata   | Ungu           | Kokobasil | Negatif (-)  |
| B2A    | Bulat            | Putih | Cembung | Rata   | Ungu           | Kokobasil | Negatif (-)  |
| B3A    | Bulat            | Putih | Cembung | Rata   | Ungu           | Kokobasil | Negatif (-)  |
| B4B    | Bulat            | Putih | Cembung | Rata   | Ungu           | Basil     | Negatif (-)  |
| B5B    | Bulat            | Putih | Cembung | Rata   | Ungu           | Basil     | Negatif (-)  |
| B6B    | Bulat            | Putih | Cembung | Rata   | Ungu           | Basil     | Negatif (-)  |

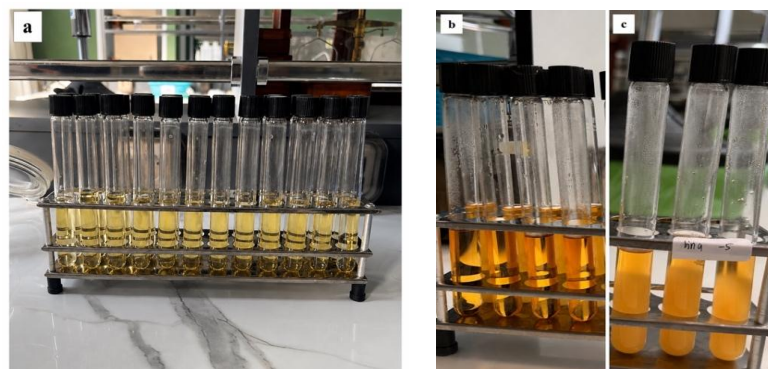


Gambar 2. Pewarnaan Gram. (a) Isolat B1A; (b) Isolat B2A; (c) Isolat B3A; (d) Isolat B4B; (e) Isolat B5B; (f) Isolat B6B

Hasil pewarnaan Gram pada tapai singkong menunjukkan bahwa isolat bakteri berbentuk kokobasil dan basil dengan warna ungu, sehingga termasuk Gram positif. Selanjutnya, pengukuran pH dilakukan saat proses fermentasi. Hasil menunjukkan adanya penurunan pH media dan kondisi setelah inkubasi. Nilai pH awal media sebesar 6 dan mengalami penurunan menjadi 4 setelah proses inkubasi pada seluruh isolat, juga kondisi setelah fermentasi menjadi lebih keruh dibandingkan sebelum fermentasi.

Tabel 2. Pengukuran pH pada BAL Hasil Isolasi dari Tapai Singkong

| Isolat | Uji pH             |                    |
|--------|--------------------|--------------------|
|        | Sebelum Fermentasi | Setelah Fermentasi |
| B1A    | 6                  | 4                  |
| B2A    | 6                  | 4                  |
| B3A    | 6                  | 4                  |
| B4B    | 6                  | 4                  |
| B5B    | 6                  | 4                  |
| B6B    | 6                  | 4                  |



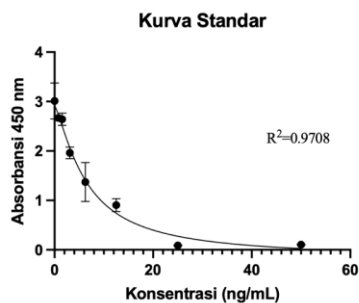
Gambar 3. Hasil Fermentasi Isolat BAL dari Tapai Singkong. Keterangan: (a) Sebelum Fermentasi; (b) Setelah Fermentasi (kontrol); (c) Setelah Fermentasi (sampel)

Selanjutnya, kadar serotonin pada supernatan kultur dianalisis menggunakan ELISA. Kurva standar serotonin dibuat menggunakan model regresi nonlinier 4-Parameter Logistic (4PL) dan menghasilkan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9708. Berdasarkan model 4PL tersebut, persamaan 4PL yang digunakan adalah:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top}-\text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50}-X) * \text{HillSlope}))}$$

$$= -0.1672 + (2.910 - (-0.1672)) / (1 + 10^{(0.8117 - X) * (-1.321)}) \quad (1)$$

Rumus. (1). Persamaan 4PL



Gambar 4. Kurva standar serotonin menggunakan metode ELISA

Kemudian hasil pengukuran kadar serotonin masing-masing isolat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok isolat BAL menunjukkan kadar serotonin berkisar 10.903–33.952 ng/mL, sedangkan kelompok kontrol berkisar 0.195–2.210 ng/mL. Rerata kadar serotonin kelompok isolat sebesar  $21.47 \pm 9.59$  ng/mL, sedangkan kelompok kontrol sebesar  $1.23 \pm 1.01$  ng/mL.

Tabel 2. Nilai Kadar Serotonin Kelompok Sampel dan Kontrol

| Kelompok | Kode Sampel | Kadar Serotonin (ng/mL) |
|----------|-------------|-------------------------|
| Sampel   | B1A         | 24.601                  |
| Sampel   | B2A         | 33.952                  |
| Sampel   | B3A         | 30.412                  |
| Sampel   | B4B         | 12.974                  |
| Sampel   | B5B         | 10.903                  |
| Sampel   | B6B         | 15.963                  |
| Kontrol  | N1          | 0.195                   |
| Kontrol  | N2          | 2.210                   |
| Kontrol  | N3          | 1.293                   |

Berdasarkan hasil uji Welch's t test didapatkan nilai rerata kadar serotonin pada kelompok sampel adalah sebesar 21.47 ng/mL ( $n=6$ ), sedangkan pada kelompok kontrol sebesar 1.23 ng/mL ( $n=3$ ). Terdapat perbedaan bermakna secara statistik antara kelompok sampel dan kontrol yang ditandai dengan uji Welch's t-test menunjukkan nilai  $p\text{-value}=0.0033$  ( $p\text{-value}<0.05$ ).

Tabel 3. Uji Welch's T test

| Kelompok | n | Kadar Serotonin<br>Mean $\pm$ SD (ng/mL) | P-value             |
|----------|---|------------------------------------------|---------------------|
| Sampel   | 6 | $21.47 \pm 9.59$                         | 0.0033 <sup>a</sup> |
| Kontrol  | 3 | $1.23 \pm 1.01$                          |                     |

Keterangan: a = Uji Welch's t-test

#### 4. PEMBAHASAN

##### Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Tapai Singkong

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enam isolat bakteri yang diperoleh dari tapai singkong, yaitu B1A, B2A, B3A, B4B, B5B, dan B6B, memiliki karakteristik fenotipik yang mendukung identifikasi awal sebagai bakteri asam laktat (BAL). Berdasarkan Gambar 1, terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media de Man-Rogosa-Sharpe Agar (MRSA) yang mengandung  $\text{CaCO}_3$  menunjukkan adanya aktivitas pengasaman oleh

bakteri. Asam organik yang dihasilkan selama pertumbuhan bereaksi dengan  $\text{CaCO}_3$  sehingga membentuk zona bening di sekitar koloni [17]. Temuan ini menunjukkan bahwa isolat memiliki kemampuan menghasilkan senyawa asam yang merupakan salah satu karakteristik metabolik BAL.

Berdasarkan Tabel 1, seluruh isolat memiliki morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna putih, berelevasi cembung, dan bertepian rata. Hasil pewarnaan Gram pada Gambar 2 menunjukkan bahwa seluruh isolat berwarna ungu atau Gram positif, dengan variasi bentuk sel. Isolat B1A, B2A, dan B3A berbentuk kokobasil, sedangkan B4B, B5B, dan B6B berbentuk basil. Perbedaan morfologi tersebut masih sesuai dengan karakteristik BAL yang umumnya memiliki bentuk kokus, kokobasil, atau basil [7,19]. Selain itu, seluruh isolat menunjukkan hasil katalase negatif, ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung setelah penambahan  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Hasil tersebut sejalan dengan karakteristik BAL yang umumnya bersifat Gram positif dan katalase negatif [13,20]. Dengan demikian, kombinasi karakteristik morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan uji katalase mendukung dugaan bahwa keenam isolat termasuk kelompok BAL. Namun, identifikasi lebih lanjut secara molekuler diperlukan untuk memastikan identitas bakteri hingga tingkat spesies atau strain.

#### **Aktivitas Fermentasi dan Perubahan pH Media**

Aktivitas metabolik isolat BAL ditunjukkan melalui perubahan kondisi media dan penurunan pH selama proses fermentasi. Berdasarkan Tabel 2, seluruh isolat mengalami penurunan pH dari 6 sebelum fermentasi menjadi 4 setelah fermentasi. Selain itu, Gambar 3 memperlihatkan bahwa media kultur sampel mengalami peningkatan kekeruhan setelah inkubasi dibandingkan kondisi sebelum fermentasi. Kekeruhan tersebut mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri dalam media MRSB [22,23].

Penurunan pH menunjukkan berlangsungnya aktivitas pengasaman akibat metabolisme karbohidrat oleh bakteri yang menghasilkan asam organik, terutama asam laktat [24]. Produksi asam menyebabkan peningkatan konsentrasi ion hidrogen sehingga pH media menurun. Besarnya perubahan pH dapat dipengaruhi oleh jenis mikroorganisme, komposisi substrat, kapasitas buffer media, serta kondisi inkubasi [25]. Keceragaman penurunan pH pada keenam isolat menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki kemampuan mengasamkan media pada kondisi kultur yang digunakan. Meskipun demikian, nilai pH yang sama tidak selalu mencerminkan kesamaan aktivitas metabolik atau jumlah metabolit yang dihasilkan karena setiap isolat dapat memiliki karakteristik metabolisme yang berbeda [21,24]. Aktivitas metabolik tersebut menjadi dasar untuk mengevaluasi potensi pembentukan senyawa bioaktif, termasuk serotonin, dalam supernatan kultur BAL.

#### **Kadar Serotonin pada Supernatan Kultur BAL**

Pengukuran serotonin menggunakan metode Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) dilakukan berdasarkan kurva standar dengan model regresi nonlinier 4-Parameter Logistic (4PL). Berdasarkan Gambar 4, diperoleh nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9708 yang menunjukkan kesesuaian model terhadap data standar. Namun, keandalan kuantifikasi juga perlu mempertimbangkan rentang kalibrasi, ketepatan pengukuran, dan kemungkinan interferensi matriks sampel.

Berdasarkan tabel kadar serotonin, kelompok isolat BAL menunjukkan konsentrasi serotonin sebesar 10,903–33,952 ng/mL, sedangkan kelompok kontrol sebesar 0,195–2,210 ng/mL. Rerata kadar serotonin kelompok isolat mencapai  $21,47 \pm 9,59$  ng/mL, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol sebesar  $1,23 \pm 1,01$  ng/mL. Hasil uji Welch's t-test pada Tabel 3 menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik antara kedua kelompok ( $p = 0,0033$ ). Temuan tersebut mengindikasikan bahwa keberadaan isolat BAL berkaitan dengan peningkatan kadar serotonin yang terukur dalam supernatan kultur.

Peningkatan kadar serotonin tersebut diduga berkaitan dengan aktivitas metabolik BAL selama pertumbuhan. Beberapa BAL diketahui memiliki kemampuan menghasilkan metabolit bioaktif yang berkaitan dengan sistem serotonergik, baik melalui metabolisme prekursor maupun mekanisme metabolik lainnya [24,27]. Namun, hasil penelitian ini belum dapat memastikan bahwa seluruh serotonin yang terdeteksi berasal dari sintesis langsung

oleh BAL. Oleh karena itu, diperlukan pengujian lanjutan untuk mengidentifikasi jalur biosintesis serotonin dan memastikan kontribusi masing-masing isolat terhadap peningkatan kadar serotonin.

#### **Perbedaan Kadar Serotonin Antar Isolat BAL**

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi kadar serotonin antarisolat meskipun seluruh isolat memiliki karakteristik Gram positif, katalase negatif, dan kemampuan menurunkan pH media yang serupa. Berdasarkan tabel kadar serotonin, isolat B2A menunjukkan konsentrasi tertinggi sebesar 33,952 ng/mL, diikuti B3A sebesar 30,412 ng/mL dan B1A sebesar 24,601 ng/mL. Sementara itu, isolat B5B menunjukkan konsentrasi terendah sebesar 10,903 ng/mL, diikuti B4B sebesar 12,974 ng/mL dan B6B sebesar 15,963 ng/mL.

Variasi tersebut mengindikasikan adanya kemungkinan perbedaan kapasitas metabolik antarisolat. Meskipun memiliki karakteristik fenotipik yang relatif serupa, setiap isolat dapat memiliki kemampuan berbeda dalam memanfaatkan substrat, menjalankan jalur metabolisme, dan menghasilkan metabolit bioaktif [24,28]. Perbedaan kadar serotonin juga dapat dipengaruhi oleh kepadatan sel, ketersediaan prekursor, serta kondisi pertumbuhan selama inkubasi. Isolat B2A menjadi kandidat yang menarik untuk penelitian lanjutan karena menunjukkan kadar serotonin terukur tertinggi. Namun, penentuan isolat paling potensial memerlukan pengujian berulang, normalisasi terhadap biomassa bakteri, dan analisis statistik antarisolat untuk memastikan konsistensi hasil.

#### **Potensi Aktivitas Serotonergik BAL sebagai Kandidat Antidepresan**

Terdeteksinya serotonin dalam supernatan kultur BAL dari tapai singkong memberikan indikasi awal adanya potensi aktivitas serotonergik secara *in vitro*. Temuan ini relevan dengan konsep psychobiotics, yaitu mikroorganisme yang berpotensi memengaruhi fungsi sistem saraf dan kesehatan mental melalui interaksi dengan gut-brain axis [9,29]. BAL dapat berkontribusi terhadap komunikasi antara mikrobiota usus dan sistem saraf melalui produksi metabolit bioaktif, modulasi respons imun, serta pengaruh terhadap metabolisme neurotransmitter.

Serotonin merupakan neurotransmitter yang berperan dalam pengaturan suasana hati dan berbagai fungsi fisiologis. Aktivitas sistem serotonergik, termasuk keterlibatan reseptor 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, dan 5-HT<sub>4</sub>, berkaitan dengan mekanisme neuroplastisitas dan regulasi brain-derived neurotrophic factor (BDNF) yang relevan terhadap respons antidepresan [3]. Meskipun demikian, serotonin yang dihasilkan di lingkungan perifer tidak secara langsung menembus sawar darah otak. Oleh karena itu, peningkatan serotonin pada kultur BAL belum dapat diartikan sebagai peningkatan serotonin di sistem saraf pusat ataupun sebagai bukti efek antidepresan.

Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat BAL dari tapai singkong memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai objek penelitian psikobiotik, khususnya terkait aktivitas serotonergik. Penelitian lanjutan diperlukan melalui identifikasi molekuler isolat, konfirmasi serotonin menggunakan metode analitik yang lebih spesifik, pengujian mekanisme gut-brain axis, serta evaluasi aktivitas biologis secara *in vivo* untuk membuktikan potensi antidepresannya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat B2A memiliki kadar serotonin tertinggi dibandingkan isolat BAL lainnya. Perbedaan ini diduga berkaitan dengan variasi metabolisme triptofan, aktivitas enzim, serta kondisi pertumbuhan antar-isolat. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa metabolisme triptofan pada BAL bersifat spesifik terhadap strain, sedangkan penelitian terhadap 186 strain BAL (2025) menemukan variasi kemampuan menghasilkan turunan indol. Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa produksi serotonin oleh BAL dipengaruhi fase pertumbuhan dan kondisi media. Temuan tersebut mendukung dugaan bahwa tingginya kadar serotonin pada B2A berkaitan dengan karakteristik metaboliknya. Namun, mekanisme tersebut belum dapat dipastikan karena jalur biosintesis dan aktivitas enzim belum diuji, sehingga diperlukan konfirmasi menggunakan metode LC-MS/MS [30-31].

Perbedaan kadar serotonin antar-isolat perlu dianalisis secara statistik untuk menentukan apakah variasi yang teramati bersifat signifikan. Apabila tersedia data dari ulangan biologis yang independen, analisis dapat dilakukan menggunakan *one-way* ANOVA apabila asumsi normalitas dan homogenitas varians terpenuhi, dilanjutkan dengan uji post hoc yang sesuai. Jika asumsi parametrik tidak terpenuhi, uji Kruskal–Wallis dapat dipertimbangkan, diikuti uji lanjut yang sesuai. Tanpa hasil analisis statistik, kadar serotonin tertinggi pada isolat B2A hanya dapat dinyatakan sebagai temuan deskriptif dan belum dapat disimpulkan berbeda secara bermakna dibandingkan isolat lainnya.

Terdeteksinya serotonin pada supernatan kultur BAL memberikan informasi awal mengenai keberadaan senyawa tersebut dalam sistem kultur. Namun, hasil ini belum dapat memastikan bahwa serotonin disintesis secara langsung oleh BAL karena kemungkinan kontribusi komponen media maupun faktor lain perlu dikendalikan. Oleh karena itu, isolat B2A dapat diprioritaskan sebagai kandidat untuk penelitian lanjutan terkait metabolisme serotonin, bukan langsung dinyatakan memiliki aktivitas antidepresan. Penelitian berikutnya diperlukan melalui identifikasi molekuler isolat, konfirmasi serotonin menggunakan metode analitik yang lebih spesifik seperti LC-MS/MS, pengujian jalur metabolisme triptofan, serta evaluasi mekanisme gut-brain axis dan aktivitas biologis secara *in vivo*.

## 5. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil memperoleh enam isolat bakteri asam laktat (BAL) dari tapai singkong yang memiliki karakteristik Gram positif, berbentuk basil dan kokobasil, katalase negatif, serta mampu menurunkan pH media dari 6 menjadi 4. Pengukuran menggunakan metode ELISA menunjukkan kadar serotonin pada supernatan kultur berkisar 10,903–33,952 ng/mL, dengan kadar tertinggi pada isolat B2A (33,952 ng/mL) dan terendah pada B5B (10,903 ng/mL). Temuan ini menunjukkan adanya serotonin yang terdeteksi dalam kultur BAL secara *in vitro*, tetapi belum membuktikan bahwa serotonin tersebut disintesis oleh isolat BAL maupun menunjukkan efek antidepresan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengonfirmasi sumber serotonin, mengidentifikasi isolat secara molekuler, serta mengevaluasi aktivitas biologisnya dalam kaitannya dengan potensi psikobiotik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Farmakologi Farmasi Klinik (FKK) Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta atas pelaksanaan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama proses penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] De Filippis F, Pasoli E, Ercolini D. The food-gut axis: Lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. *FEMS Microbiol Rev*. 2020 Jul;44(4):454–89. doi:10.1093/femsre/fuaa015
- [2] Bains N, Abdijadid S. Major Depressive Disorder. StatPearls Publishing; 2023.
- [3] Pehrson AL, Roberts D, Khawaja A, McNair R. The role of serotonin neurotransmission in rapid antidepressant actions. *Psychopharmacology (Berl)*. 2022 Jun;239(6):1823–38. doi:10.1007/s00213-022-06098-5
- [4] Yulia I, Arman E. LITERATUR REVIEW TAPAI SEBAGAI SALAH SATU KANDIDAT PANGAN FUNGSIONAL.
- [5] Atmaja B, Rafelia V. Hubungan antara Psikobiotik dengan Gangguan Kecemasan. *J Indones Med Assoc*. 2022 Jun 16;71(6):286–95. doi:10.47830/jinma-vol.71.6-2021-238
- [6] Afifah LN, Khiftiyah AM, Aini N, Ningrum RC, Ni'matuzahroh N. ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI TAPE SINGKONG YANG BEREDAR DI KECAMATAN JOMBANG. *J Teknol Pangan*. 2023 Jan 3;16(2):48–56. doi:10.33005/jtp.v16i2.3547
- [7] Rahmah W, Nandini E, Ressandy SS, Hamzah H. KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI FERMENTASI TAPE SINGKONG. *J Penelit Farm Indones*. 10(1):2021–2021.
- [8] Shawky E, Surendran S, El-Khair RMA. Fermented Vegetables as a Source of Psychobiotics: A Review of the Evidence for Mental Health Benefits. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2026 Jan;18(1):1587–601. doi:10.1007/s12602-025-10592-5
- [9] Lautrette-Quinveros H, Hilgendorf J, Chan WS, Santobuono M, Selck H, Loureiro S, et al. Quantifying serotonin in four aquatic invertebrates using enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA): Implications for assessing selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) effects. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2026 Jun;124. doi:10.1016/j.etap.2026.105015

- [10] Krisdianilo V, Siregar S, Rizky VA. KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE DARI TEMPE YANG DIPERJUALBELIKAN DI PASAR LUBUK PAKAM. *J Farm JFM*. 2021 Oct 31;4(1):7–13. doi:10.35451/jfm.v4i1.616
- [11] Bear TLK, Dalziel JE, Coad J, Roy NC, Butts CA, Gopal PK. The Role of the Gut Microbiota in Dietary Interventions for Depression and Anxiety. *Adv Nutr*. 2020 Jul;11(4):890–907. doi:10.1093/advances/nmaa016
- [12] Wulandari S, Nisa YS, Taryono T, Indarti S, Sayekti RS. Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innov Agrinova*. 2022 Aug;4(2):16–16. doi:10.22146/a.77010
- [13] Wardi ES, Febriani I, Nova B. ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI TAPE UBI SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz) DAN UJI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE. Vol. 15. 2024;15.
- [14] Tripathi N, Zubair M, Sapra A. Gram Staining. StatPearls Publishing; 2025.
- [15] Okpalla J. The Effect of Inoculum Size and Medium Volume on Methionine Production by *Bacillus* species EZ-13 and ZM-10. *Asian J Biol*. 2023 Jun;18(4):14–20. doi:10.9734/ajob/2023/v18i4349
- [16] Purwaningsih D, Wulandari D. Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*: Potential of Antibacterial Compound Fermentation of Endophytic Bacteria from Taro Tuber (*Colocasia esculenta* L.) againsts *Pseudomonas aeruginosa*. *J Sains Dan Kesehat*. 2021 Oct 31;3(5):750–9. doi:10.25026/jsk.v3i5.622
- [17] Ilmia R. PROGRAM STUDI BIOLOGI FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG.
- [18] Eklesia E, Hanasia H, Putra S RAAHS, Turnip ON, Anugerahny MYI. Antibacterial Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Cassava Tape Against *Salmonella typhi*. *Biol Med Nat Prod Chem*. 2026 Jun 1;15(1):771–7. doi:10.14421/biomedich.2026.151.771-777
- [19] Goa T, Beyene G, Mekonnen M, Gorems K. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fermented Milk Produced in Jimma Town, Southwest Ethiopia, and Evaluation of their Antimicrobial Activity against Selected Pathogenic Bacteria. Castillo A, editor. *Int J Food Sci*. 2022 Dec 13;2022:1–15. doi:10.1155/2022/2076021
- [20] Basuki W, Sunaryanto R, Layly IR, Rudyono. The isolation and identification of lactic acid bacteria from Indonesian traditional fermented food. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2024 Jul 1;1377(1):012054. doi:10.1088/1755-1315/1377/1/012054
- [21] Stephen JM, Saleh AM. Homofermentative *Lactobacilli* isolated from organic sources exhibit potential ability of lactic acid production. *Front Microbiol*. 2023 Dec 21;14:1297036. doi:10.3389/fmicb.2023.1297036
- [22] Khushboo, Karnwal A, Malik T. Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Front Microbiol*. 2023 May 5;14:1170725. doi:10.3389/fmicb.2023.1170725
- [23] Azimi A, Yavarmanesh M, Gholamin M. Comparing lactic acid bacteria biodiversity in irritable bowel syndrome and healthy gut microbiota. *Food Sci Nutr*. 2024 Nov;12(11):9212–26. doi:10.1002/fsn3.4477
- [24] Wang Y, Wu J, Lv M, Shao Z, Hungwe M, Wang J, et al. Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021 May;9. doi:10.3389/fbioe.2021.612285
- [25] Bourdichon F, Arias E, Babuchowski A, Bückle A, Bello FD, Dubois A, et al. The forgotten role of food cultures. *FEMS Microbiol Lett*. 2021 Jul;368(14). doi:10.1093/femsle/fnab085
- [26] Abdul Hakim BN, Xuan NJ, Oslan SNH. A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria: Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods*. 2023 Jul;12(15):2850–2850. doi:10.3390/foods12152850
- [27] Li S. Modulation of immunity by tryptophan microbial metabolites. *Front Nutr*. 2023 Jun 21;10:1209613. doi:10.3389/fnut.2023.1209613
- [28] Dysvik A, La Rosa SL, Liland KH, Myhrer KS, Østlie HM, De Rouck G, et al. Co-fermentation Involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* Species Tolerant to Brewing-Related Stress Factors for Controlled and Rapid Production of Sour Beer. *Front Microbiol*. 2020 Feb 21;11:279. doi:10.3389/fmicb.2020.00279
- [29] Sanggor J, Kolompoy E, Taroreh J, Saranga R, Tangapo AM. (Clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) Kombucha Psychobiotics as.
- [30] Ma, B., Zhao, Y., Liu, L., Xu, J., Hu, Q., Feng, S., & Zhang, L. (2025). Evaluation of in vitro production capabilities of indole derivatives by lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 13(1), 150.
- [31] Miller, C., & Jiménez-Flores, R. (2026). The milk fat globule membrane increases bacterial serotonin and exopolysaccharide production for maintenance of intestinal cell differentiation. *Journal of Dairy Science*.