



Profil dan Potensi Terapeutik Senyawa Bioaktif Arak Beras Fermentasi Lokal Suku Dayak: Studi *in Vitro* dan *in Silico*

Vanny Nalino¹, Jendri Mamangkey^{*1}, Herman Irawan^{2*}, Des Saputro Wibowo³, Zubaidi Bachtiar⁴, Sri Ambardini⁵, Alya Rafika⁶, Muhammad Sajid Al Farras⁷

¹Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Kristen Indonesia. Jl. Mayjen Sutoyo No. 2 Cawang, Jakarta Timur

²Pusat Riset Rekayasa Genetika Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), KST Soekarno, Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911, Indonesia

³Pusat Riset Mikrobiologi Terapan-Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jakarta Pusat, Indonesia

⁴Prodi Rekayasa Hayati, Fakultas Teknik, Institut Teknologi Lombok, Jl. Selandir, Kec. Lenek Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat, 83653

⁵Prodi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Jl. H. EA. Mokodompit, Kendari 93232-Indonesia

⁶Prodi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan No.Km.10, Tamalanrea Indah, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90245

⁷Departemen Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Kota Malang, Jawa Timur-65145

*Koresponding Author: jendri.mamangkey@uki.ac.id ; herm015@brin.go.id

Diterima: 27 Mei 2025 – Disetujui: 30 Mei 2025 – Dipublikasi: 31 Mei 2025

ABSTRAK

Arak beras tradisional merupakan minuman fermentasi yang kaya akan nilai budaya, terutama di Kalimantan Barat di kalangan masyarakat suku Dayak. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa aktif dalam arak beras lokal dan mengevaluasi aktivitas biologisnya, khususnya dalam konteks terapeutik. Metode yang digunakan meliputi analisis senyawa aktif menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), pengujian aktivitas secara *in vitro*, serta validasi uji *in silico*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa arak beras lokal memiliki aktivitas antiinflamasi dan GABA yang signifikan, serta aktivitas antibiofilm terhadap bakteri patogen seperti *E. coli* dan *Listeria* sp. Analisis GC-MS mengidentifikasi enam senyawa aktif yaitu butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester; ethyl dl-2-hydroxycaproate; phenylethyl alcohol; benzyl methyl ketone; butanedioic acid, diethyl ester; 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid, beberapa di antaranya menunjukkan potensi sebagai agen antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antimikroba. Simulasi *docking* mengindikasikan bahwa senyawa tertentu memiliki potensi terapeutik yang menjanjikan. Analisis Lipinski, AMDE, dan prediksi toksisitas mengindikasikan potensi senyawa sebagai obat secara oral. Hasil ini diharapkan dapat memperdalam pemahaman tentang manfaat kesehatan arak beras dan kontribusinya dalam pengobatan tradisional.

Kata kunci: arak beras, fermentasi, potensi terapeutik, senyawa

ABSTRACT

Traditional rice wine (*Arak beras*) is a fermented beverage rich in cultural value, particularly in West Kalimantan among the Dayak community. This study aims to identify the active compounds in local rice wine and evaluate its biological activity, especially in a therapeutic context. The methods used include active compound analysis using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), *in vitro* activity testing, and *in silico* validation. The results indicate that local rice wine exhibits significant anti-inflammatory and GABA activity, as well as antibiofilm activity against pathogenic bacteria such as *E. coli* and *Listeria* sp. GC-MS analysis identified six active compounds: butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester; ethyl dl-2-hydroxycaproate; phenylethyl alcohol; benzyl methyl ketone; butanedioic acid, diethyl ester; and 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid, some of which show potential as anti-inflammatory, antioxidant, antidiabetic, and antimicrobial agents.

docking simulations indicate that certain compounds have promising therapeutic potential. Lipinski's analysis, AMDE, and toxicity predictions suggest the compounds' potential as oral drugs. These findings are expected to deepen the understanding of the health benefits of rice wine and its contribution to traditional medicine.

Key words: rice wine, fermentation, therapeutic potential, compounds

PENDAHULUAN

Arak atau tuak yang berbahan dasar beras adalah minuman fermentasi yang kaya akan sejarah dan budaya, menjadi favorit di kalangan masyarakat Asia berkat rasa manis dan menyegarkannya serta nilai gizi yang tinggi (Hao *et al.*, 2023; Seo *et al.*, 2016). Di Indonesia, khususnya di Kalimantan Barat, suku Dayak memiliki produk lokal yang dikenal sebagai arak beras, yang telah menjadi bagian integral dari tradisi sosial dan spiritual mereka selama berabad-abad (Pahlawan dkk., 2023). Arak beras ini dibuat dari beras ketan putih atau merah yang dikukus dan difermentasi dengan ragi tradisional.

Proses fermentasi pada arak beras tidak hanya memberikan rasa yang unik, tetapi juga menawarkan manfaat kesehatan yang signifikan. Lu *et al.* (2015) melaporkan bahwa Hakka rice wine (HRW) memiliki berbagai khasiat farmakologis, seperti menurunkan tekanan darah, mengatur metabolisme lipid, menurunkan berat badan, dan memperlambat proses penuaan, berkat komposisi asam amino, senyawa beraroma, vitamin, dan peptida aktif yang melimpah. Fermentasi juga berkontribusi pada peningkatan nilai gizi makanan serta ketersediaan komponen biologis dan polifenolik (Cai *et al.*, 2019). Kuantitas polifenol yang tinggi dalam produk tuak beras China terbukti efektif dalam mengekstrak senyawa antioksidan dari beras ketan (Luo *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2015).

Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya peptida bioaktif dalam produk sake/*rice wine* (Han & Xu, 2011; Zhou *et al.*, 2021), dan produk serupa juga ditemukan di Indonesia, khususnya di kalangan suku Dayak. Arak beras berfungsi sebagai minuman lokal yang penting di Kalimantan, terbuat dari beras ketan (Fransiska *et al.*, 2023). Ragi yang digunakan dalam pembuatan arak beras berbeda dari ragi yang umum digunakan dalam produk fermentasi lainnya di Indonesia. Berdasarkan informasi dari pembuat arak beras asli Kalimantan, ragi tradisional dibuat dari campuran tepung beras dan tanaman liar yang tumbuh di sekitar desa, dan seluruh proses dilakukan secara manual tanpa alat modern.

Berangkat dari latar belakang tersebut, penelitian mengenai arak beras fermentasi lokal suku Dayak menjadi menarik untuk diteliti, terutama terkait manfaat kesehatan yang ditawarkannya. Proses fermentasi melibatkan berbagai mikroorganisme yang dapat mengonversi beras menjadi senyawa bioaktif yang bermanfaat. Hingga saat ini, kajian terapeutik seperti aktivitas antiinflamasi, antibiofilm, dan kandungan *gamma-aminobutyric acid* (GABA) belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, penting untuk mengungkap profil senyawa bioaktif yang berperan dalam aktivitas terapeutik tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendata senyawa aktif dalam arak beras fermentasi lokal suku Dayak melalui analisis GC-MS, menguji aktivitas terapeutik secara *in vitro*, dan memvalidasi mekanisme terapeutik melalui metode *in silico* dengan *molecular docking*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru tentang manfaat kesehatan arak beras lokal suku Dayak dan menyediakan dasar teoritis untuk pengembangan produk kesehatan, sehingga meningkatkan nilai ekonomisnya di masyarakat Kalimantan.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan antara bulan Maret hingga Mei 2025, dengan fokus pada analisis minuman arak beras tradisional terfermentasi yang dikoleksi dari Desa Serukam, Kecamatan

Samalantan, Kabupaten Bengkayang, Provinsi Kalimantan Barat. Preparasi sampel arak beras dilakukan di Laboratorium Fisiologi (Laboratorium Biologi Basah) Prodi Pendidikan Biologi, Universitas Kristen Indonesia. Selanjutnya, penentuan komposisi senyawa dalam sampel dilakukan menggunakan metode gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Selain itu, pengujian aktivitas antiinflamasi, antibiofilm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Listeria* sp., dan analisis *gamma-aminobutyric acid* (GABA) dilaksanakan di Laboratorium Genomik dan Cryo-EM, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah inkubator, shaker incubator, instrumen GS-MS, microplate reader. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian antara lain ddH₂O, aluminium foil, metanol, diklofenak, bovine serum albumin (BSA), natrium hidrogen karbonat, dansil klorida, korteksin, *crystal violet*, *disposable syringe* 3ml, *syringe filter* 0,45 µm, parafilm, aluminium foil, kapas sumbat, 96-well microplate, dan tip mikropipet ukuran 1000, 500, dan 100 µL.

Prosedur Kerja

Pembuatan Arak Beras dari Beras Ketan

Prosedur pembuatan arak beras fermentasi, langkah pertama adalah memilih beras ketan putih berkualitas yang dikukus dengan teknik khusus agar matang merata dan tidak terlalu lembek. Setelah beras didinginkan, ragi tradisional yang terbuat dari bahan-bahan alami seperti tepung beras, daun-daunan pahit, dan abu kayu ditaburkan secara merata. Beras yang telah dikukus dan diberi ragi selanjutnya dimasukkan ke dalam tempayan atau wadah khusus dari tanah liat, yang dipercaya mampu menjaga kestabilan suhu selama proses fermentasi dan memberikan rasa khas pada arak beras. Tempayan tersebut disimpan di tempat yang teduh dan tidak boleh terlalu sering dibuka, agar proses fermentasi berlangsung optimal. Fermentasi ini memakan waktu antara lima (5) hari hingga dua (2) minggu, hingga aroma arak beras yang dihasilkan menjadi kuat dan khas.

Uji In vitro Antiinflamasi

Aktivitas antiinflamasi dari sampel arak beras disiapkan pada konsentrasi 500 ppm, dengan kontrol positif menggunakan Diklofenak pada konsentrasi yang sama. Sampel arak beras dicampurkan 0,15% bovine serum albumin (BSA) dalam buffer pada *well plate* 96 dengan perbandingan 1:5 (v/v) dan diinkubasi selama sepuluh menit pada suhu ambient. Setelah itu, campuran dipanaskan selama dua puluh menit hingga mencapai suhu 51 °C, kemudian didinginkan kembali pada suhu kamar. Pengukuran nilai absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm, dan persentase penghambatan denaturasi protein dihitung dengan rumus berikut, A1 menunjukkan absorbansi sampel dan A0 menunjukkan absorbansi blanko.

$$\text{Persentase penghambatan} = [(A0-A1)/(A0)] \times 100\%$$

Uji In vitro Antibiofilm

Kultur bakteri patogen *Escherichia coli* (bakteri Gram -) dan *Listeria* sp. (bakteri Gram +) diremajakan menggunakan media Luria Bertani (LB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan shaker 200 rpm. Setelah itu, dilakukan dilusi dengan mengambil 10 µl bakteri patogen dan memasukkannya ke dalam 990 µl media LB. Selanjutnya, disiapkan *multiwell plate* 96 wells, di mana setiap wells diisi 100 µl ekstrak sampel (perlakuan) dan 100 µl bakteri patogen. Untuk kontrol

positif (+), digunakan kombinasi 100 µl bakteri patogen dan 100 µl antibiotik, sedangkan kontrol negatif (-) terdiri dari 100 µl bakteri patogen dan 100 µl aquades steril. Setelah pengisian, plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dan pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya cincin di sekitar wells. Setelah inkubasi, sel planktonik dihilangkan dengan menambahkan 200 µl ddH₂O, kemudian dikeringkan dengan *tissue* kering. Tahapan selanjutnya menambahkan 200 µl larutan 1% *crystal violet* dan diinkubasi selama 10-15 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, larutan dibuang dan dilakukan pencucian dengan 200 µl ddH₂O, lalu dikeringkan dengan *tissue* kering atau oven pada suhu 50-60°C. Untuk pengujian kuantitatif, ditambahkan 200 µl asam asetat 30% dan diinkubasi selama 10-15 menit pada suhu ruang. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 595 nm dan 570 nm dan dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol negatif} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol negatif}} \times 100$$

Uji Kandungan Gamma Aminobutyric Acid, γ -Aminobutyric Acid (GABA)

Cairan arak beras pertama-tama disaring menggunakan filter *syringe* 0,45 µm dan disimpan pada suhu 5 °C untuk menjaga kestabilannya. Sebelum melanjutkan ke proses derivatisasi, larutan GABA standar disiapkan dalam air milli-Q dengan konsentrasi yang bervariasi, yaitu 12,5, 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm. Derivatisasi GABA dilakukan dengan mencampurkan 50 µL sampel atau larutan standar dengan 450 µL natrium hidrogen karbonat (0,1 M; pH 8,7) dan 500 µL dansil klorida (2,5 mg/mL dalam aseton). Campuran ini kemudian dihomogenasi menggunakan korteksin dan diinkubasi pada suhu 55 °C selama 1 jam. Setelah proses inkubasi, campuran didinginkan hingga mencapai suhu ruang dan disaring kembali menggunakan filter *syringe* 0,45 µm. Untuk mendeteksi kandungan GABA, instrumen *high-performance liquid chromatography* (HPLC) dari Shimadzu digunakan, memastikan analisis yang akurat dan efisien.

Analisis In Silico

Analisis *in silico* dilakukan melalui simulasi penambatan molekuler untuk mengidentifikasi binding pocket ligan pada situs katalitik reseptor (Bachtiar *et al.* 2023). Proses *docking* menggunakan program AutoDock Vina, di mana senyawa bioaktif hasil profiling GC-MS dianalisis untuk menemukan kandidat potensial sebagai antidiabetes, antioksidan, dan antiinflamasi. Senyawa ligan diambil dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan diunduh dalam format file SDF, yang kemudian dikonversi ke format PDB menggunakan Open Babel 2.4.1. Protein reseptor yang menjadi target interaksi, yaitu antidiabetes (7KBR), antioksidan (5O0X), dan antiinflamasi (5IKR), diunduh dari RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Setelah itu, preparasi reseptor dan ligan dilakukan dengan AutoDock Vina, dan hasilnya disimpan dalam format PDBQT. Proses *docking* kemudian dijalankan melalui Command Prompt (CMD), dan hasilnya divisualisasi menggunakan PLIP-tools dan Pymol untuk mengidentifikasi residu asam amino yang berikatan antara reseptor dan ligan.

Prediksi ADME dan Toksisitas In silico melalui ProTox

Server web SwissADME digunakan untuk mengevaluasi kesesuaian obat atau bioavailabilitas oral terhadap senyawa dari arak beras lokal. Aturan Lima Lipinski diterapkan menggunakan *simplified molecular input line entry system* (SMILES). Evaluasi sifat farmakokinetik suatu senyawa dilakukan melalui server SwissADME (<http://www.swissadme.ch>). Prediksi toksisitas *in silico* untuk senyawa dilakukan melalui server web ProTox 3.0 (<https://comptox.charite.de/protox3/>). Nama kimia sesuai

dengan PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan SMILES dari senyawa dapat dimasukkan ke dalam *server web* untuk memprediksi toksisitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengetahuan Lokal Suku Dayak terhadap Arak Beras

Pengetahuan lokal tentang pembuatan arak beras hasil fermentasi diwariskan secara lisan dari generasi ke generasi. Informan kunci dari suku Dayak menjelaskan bahwa pembuatan arak bukan sekadar mencampur bahan, melainkan mengikuti tahapan tradisional yang telah ditentukan. Proses dimulai dengan pemilihan beras ketan berkualitas, seperti beras ketan putih atau merah yang memiliki kadar pati tinggi, yang kemudian dicuci bersih dan dikukus dengan teknik khusus agar matang merata tanpa lembek. Setelah didinginkan, ragi tradisional yang terbuat dari bahan alami seperti tepung beras, daun pahit, dan abu kayu ditaburkan secara merata.

Ragi ini diyakini mengandung mikroorganisme alami yang memulai proses fermentasi, dan masyarakat percaya bahwa ragi yang dibuat dengan hati bersih dan niat baik akan menghasilkan arak yang harum dan berkhasiat. Oleh karena itu, pembuat ragi harus menjalani pantangan tertentu, seperti tidak berkata kasar atau marah, sebelum memulai proses. Setelah ragi ditaburkan, beras yang telah diragi dimasukkan ke dalam tempayan tanah liat, yang dianggap menjaga kestabilan suhu dan memberikan rasa khas pada arak. Tempayan disimpan di tempat teduh dan tidak boleh sering dibuka, dengan proses fermentasi berlangsung antara lima hari hingga dua minggu, tergantung pada cuaca, suhu, dan cita rasa yang diinginkan.



Gambar 1. Arak beras lokal terfermentasi berbahan dasar beras ketan

Melalui pengamatan, terlihat bahwa semakin lama proses fermentasi, aroma yang dihasilkan semakin kuat, menandakan keberhasilan produksi arak (Gambar 1). Masyarakat memperoleh pengetahuan tentang pengaruh suhu, kelembapan, dan bahan baku tidak melalui pendidikan formal, melainkan dari pengalaman dan pengamatan yang diwariskan secara turun-temurun. Hal ini menunjukkan bahwa mereka memiliki sistem pengetahuan lokal yang kompleks dan relevan secara ilmiah, meskipun tidak disampaikan dalam bahasa teknis.

Tradisi masyarakat lokal Kalimantan Barat, pembuatan arak bukan hanya sekadar aktivitas ekonomi, tetapi juga bagian dari proses belajar sosial. Sejak kecil, anak-anak dilibatkan dalam kegiatan mencuci beras dan membersihkan wadah, agar mereka dapat mewarisi pengetahuan tersebut. Namun, di tengah modernisasi, minat generasi muda untuk belajar membuat arak mulai menurun, karena dianggap kuno dan tidak sesuai dengan nilai-nilai modern. Jika tidak ada upaya untuk

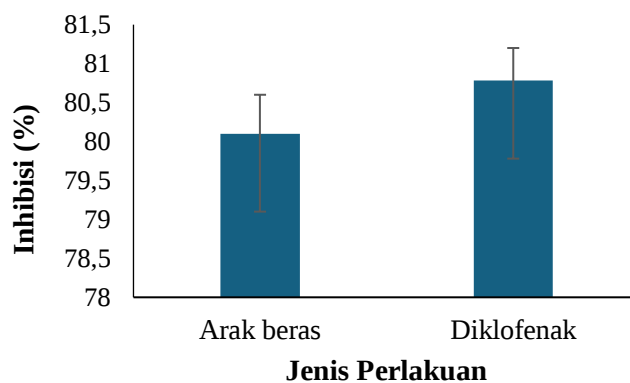
mendokumentasikan dan menghidupkan kembali nilai-nilai ini, tradisi pembuatan arak berisiko menghilang.

Oleh karena itu, kolaborasi antara dunia akademik dan institusi budaya dengan komunitas lokal sangat penting untuk melestarikan pengetahuan fermentasi tradisional sebagai bagian dari kekayaan budaya Indonesia. Ragi, yang dianggap sebagai “roh” arak, memerlukan perhatian khusus dalam proses pembuatannya, termasuk waktu, suhu, dan kondisi spiritual pembuat. Kesalahan kecil dapat berdampak pada rasa dan kualitas arak, sehingga pengetahuan ini, meskipun tidak tertulis, sangat kaya akan nilai budaya dan pengalaman empiris.

Hasil Pengujian Aktivitas Terapeutik

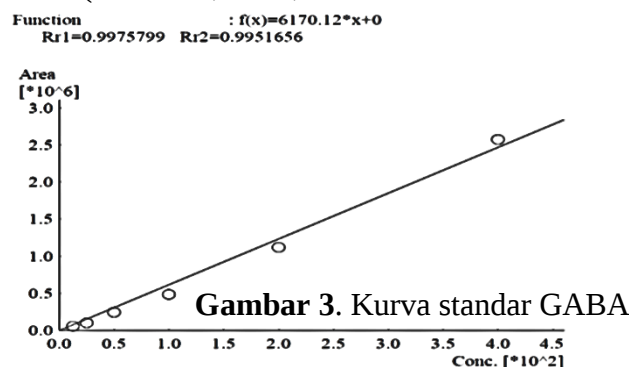
Aktivitas Antiinflamasi dan Kandungan GABA

Pengujian antiinflamasi dinyatakan sebagai persen (%) inhibisi terhadap protein yang mengalami denaturasi. Hasil pengujian aktivitas antiinflamasi pada arak beras, yang ditampilkan pada Gambar 2, menunjukkan bahwa arak beras memiliki nilai inhibisi sebesar 80.10%, mendekati nilai inhibisi kontrol positif yang mencapai 80.78%. Temuan ini membuktikan adanya aktivitas antiinflamasi yang signifikan pada produk arak beras lokal terfermentasi dari suku Dayak, yang diduga disebabkan oleh tingginya kandungan senyawa fenolik dan flavonoid.



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antiinflamasi arak beras lokal dan diklofenak sebagai Kontrol (+)

Senyawa-senyawa ini dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi (Malina *et al.*, 2024) dan dapat dihasilkan oleh konsorsium mikroorganisme fermentatif, terutama kelompok khamir yang menyukai substrat karbohidrat. Selama proses fermentasi, banyak senyawa bioaktif dapat diperoleh, dengan *S. cerevisiae* sebagai mikroorganisme fermentatif dominan. Beberapa khamir non-konvensional juga dilaporkan mampu memproduksi atau mengubah senyawa bermanfaat seperti β -glukan, glutathione, asam amino, melatonin, dan polifenol (Lee *et al.*, 2019; Liszkowska & Berłowska, 2021).



Gambar 3. Kurva standar GABA

Selanjutnya, pengujian dilakukan untuk mengukur kandungan GABA pada arak beras terfermentasi. Untuk memastikan keakuratan pengukuran, dibuat kurva kalibrasi (Gambar 3), yang menunjukkan nilai regresi (r) sebesar 0.99. Setelah itu, arak beras dicampur dengan GABA aslinya, dan hasil menunjukkan bahwa konsentrasi GABA dalam produk arak beras suku Dayak adalah 78,531 mg/100 mL. Laporan ini merupakan yang pertama kali mengungkapkan bahwa arak beras lokal mengandung GABA, yang memiliki manfaat bioterapeutik, termasuk pengaturan stres dan kecemasan, modulasi fungsi kognitif dan otak, pengaturan waktu tidur, serta peningkatan suasana hati (Rashmi *et al.*, 2018).

Selama fermentasi, keterlibatan bakteri dan khamir probiotik dapat terakumulasi dalam produk akhir arak beras. Penelitian oleh Kittibunchakul *et al.* (2021) menunjukkan bahwa penambahan *Lactobacillus pentosus* 9D3 ke dalam produk brown rice milk dari Thailand dapat meningkatkan kandungan GABA dan aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa arak beras lokal suku Dayak memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan fungsional dalam produk minuman yang mengandung GABA probiotik. Secara biologis, GABA disintesis melalui dekarboksilasi asam L-glutamat, yang dikatalisis oleh enzim sitosolik glutamat dekarboksilase (GAD) (Dhakal *et al.*, 2012; Rashmi *et al.*, 2018; Yogeswara *et al.*, 2021).

Aktivitas Antibiofilm

Uji aktivitas antibiofilm dilakukan menggunakan metode *crystal violet binding assay* (Lahkar *et al.*, 2017). Suspensi bakteri *E. coli* dan *Listeria* sp., yang mewakili bakteri Gram negatif dan Gram positif, disiapkan dengan menyesuaikan konsentrasi sesuai standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Selanjutnya, mikrotiter yang berisi suspensi tersebut diukur menggunakan *microplate reader* pada dua panjang gelombang yaitu 570 nm dan 595 nm, sesuai dengan prosedur yang diadopsi dari penelitian sebelumnya (Maksoud *et al.*, 2024; Bjarnsholt *et al.*, 2011). Hasil dari pengujian aktivitas penghambatan terhadap biofilm dapat dilihat secara rinci pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil persentase penghambatan biofilm arak beras lokal yang dikonsumsi masyarakat suku Dayak, Kalimantan Barat

Panjang gelombang (nm)	Penghambatan biofilm terhadap <i>E. coli</i> (%)			Penghambatan biofilm terhadap <i>Listeria</i> sp. (%)		
	Arak beras	K+	K-	Arak beras	K+	K-
570	83.13	87.56	0	81.26	39.44	0
595	90.51	88.46	0	81.84	39.76	0

Hasil pengujian penghambatan biofilm *E.coli* dan *Listeria* sp. menunjukkan bahwa arak beras pada pembacaan kedua jenis panjang gelombang (*wavelength*) berhasil dan mampu menghambat terbentuknya biofilm oleh bakteri *E.coli* maupun *Listeria* sp., dengan persentase penghambatan tertinggi 90.51% pada penghambatan biofilm *E. coli* dan 81.84 terhadap biofilm *Listeria* sp. dengan pembacaan 595 nm. Data yang disajikan dalam Tabel 1 merupakan hasil perhitungan persentase penghambatan biofilm berdasarkan nilai absorbansi. Temuan ini menunjukkan bahwa arak beras memiliki potensi untuk menghambat pembentukan biofilm pada bakteri Gram negatif dan Gram positif, yang diwakili oleh *E. coli* dan *Listeria* sp. Laporan ini merupakan yang pertama kali memberikan wawasan mengenai aktivitas antibiofilm dari minuman arak beras lokal, dan penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menguji efektivitasnya terhadap berbagai jenis bakteri lainnya.

Hasil Analisis GC-MS

Hasil analisis GC-MS mengidentifikasi sembilan senyawa dalam arak beras, di mana enam di antaranya menunjukkan aktivitas biologis yang relevan sebagai senyawa terapeutik (Tabel 2). Penelitian ini mengungkapkan bahwa produk arak beras memiliki beragam aktivitas biologis, termasuk antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan antidiabetes. Salah satu senyawa, benzyl methyl ketone, masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan aktivitas biologisnya. Sebagai contoh, senyawa butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester yang diekstrak dari daun *Melia azedarach* telah terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi (Al-Marzoqi *et al.*, 2015). Selain itu, phenylethyl alcohol juga menunjukkan aktivitas serupa (Rahman *et al.*, 2023). Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Dadkhah *et al.* (2019) dan Amor *et al.* (2019), yang mencatat bahwa phenylethyl alcohol merupakan komponen utama dalam minyak esensial dari *Rosa damascena* Mill. dan *Phlomis*, yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Secara keseluruhan, laporan ini berkontribusi pada pengembangan agen antiinflamasi dan antioksidan bagi manusia, serta menunjukkan hubungan antara pemanfaatan minuman fermentasi lokal suku Dayak dengan aktivitas farmakologisnya.

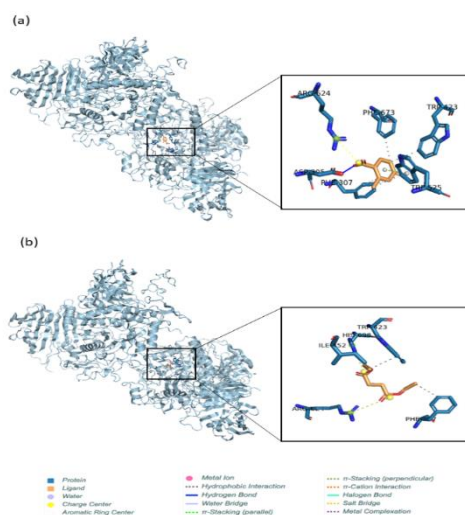
Tabel 2. Hasil GC-MS senyawa aktif arak beras lokal

Senyawa arak beras	Indeks similaritas (%)	Area	Rumus kimia	Aktivitas biologis
Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester	90	484019	C ₇ H ₁₄ O ₃	Antimikroba, antiinflamasi (Al-Marzoqi <i>et al.</i> , 2015); antioksidan (Madar <i>et al.</i> , 2025)
Ethyl dl-2-hydroxycaproate	88	908821	C ₈ H ₁₆ O	-
Phenylethyl alcohol	97	18338999	C ₈ H ₁₀ O	Antioksidan dan antiinflamasi (Rahman <i>et al.</i> , 2023)
Benzyl methyl ketone	78	5484650	C ₉ H ₁₀ O	-
Butanedioic acid, diethyl ester	89	1187800	C ₈ H ₁₄ O ₄	Antidiabetes (Mgbeje <i>et al.</i> , 2020)
4-Hydroxy-2-methylbenzoic acid	54	157225	C ₈ H ₈ O ₃	Antidiabetes (Gayathri, 2009)

Selain itu, kami menemukan senyawa aktif lain dalam arak beras lokal, seperti butanedioic acid, diethyl ester, dan 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid, yang keduanya telah dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes (Mgbeje *et al.*, 2020; Gayathri, 2009). Senyawa 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid, yang termasuk dalam kelompok fenolik, dapat ditemukan pada ekstrak akar *Securidaca longipedunculata*. Ghaly *et al.* (2025) berhasil mengekstraksi butanedioic acid, diethyl ester dari kelopak *Hibiscus sabdariffa* dan memiliki sifat antibakteri yang kuat terhadap isolat bakteri klinis multidrug resistance (MDR) seperti *Acinetobacter baumannii*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Senyawa bioaktif dalam kelopak *Hibiscus sabdariffa* memiliki potensi yang kuat sebagai antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antidiabetik, dan antikanker (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020). Kami berpendapat bahwa butanedioic acid, diethyl ester dari arak beras lokal dapat dimungkinkan memiliki aktivitas biologis yang serupa meskipun berasal dari sumber yang berbeda. Oleh karena itu, penguatan argumen ini dapat dilakukan melalui analisis *in silico*.

Hasil *In silico* dengan Simulasi *Docking* Senyawa Potensial sebagai Antidiabetes

Hasil penelitian ini mengungkapkan potensi senyawa antidiabetes yang terdapat dalam arak beras lokal fermentasi melalui analisis *docking* menggunakan reseptor antidiabetik 7KBR (Gambar 4). Senyawa 4-4-hydroxy-2-methylbenzoic acid dan butanedioic acid, diethyl ester masing-masing memiliki nilai binding affinity sebesar -5,8 kcal/mol dan -5,1 kcal/mol, dengan ikatan yang melibatkan residu asam amino seperti Asp305, Phe307, Trp423, Trp525, dan Phe673 untuk senyawa pertama, serta Phe307, Trp423, dan Ile452 untuk senyawa kedua (Tabel 3). Temuan ini menegaskan bahwa kedua senyawa tersebut berpotensi sebagai agen antidiabetes, didukung oleh nilai binding affinity yang negatif dan keterikatan pada residu asam amino di daerah yang dapat membentuk konformasi ikatan (Nurjannah *et al.*, 2024).



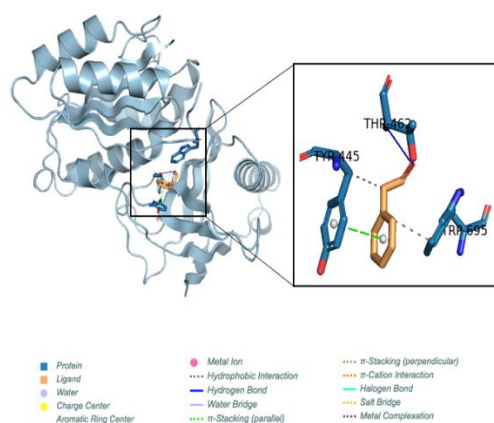
Gambar 4. Kompleks pengikatan antara ligan dan reseptor senyawa (a) 4-4-Hydroxy-2-methylbenzoic acid-Alfa glukosidase (b) Butanedioic acid, diethyl ester-Alfa glukosidase. Konformasi ikatan divisualisasikan menggunakan program *Protein Ligand Interaction Profiler* (PLIP) dan dikombinasikan dengan program pymol v 2.3.

Tabel 3. Nilai afinitas pengikatan dan residu asam amino yang mengikat reseptor antidiabetes, antioksidan, antiinflamasi

Aktivitas terapeutik	Reseptor	Nama senyawa	Binding affinity (kcal/mol)	Hydrogen bond and hydrophobic interaction
Antidiabetik	Alfa-glucosidase (7KBR)	4-4-Hydroxy-2-methylbenzoic acid	-5,8	Asp305, Phe307, Trp423, Trp525, Phe673
	Alfa-glucosidase (7KBR)	Butanedioic acid, diethyl ester	-5,1	Phe307, Trp423, Ile452
Antioksidan	NADPH Oxidase (5OXX)	Phenylethyl alcohol	-5,8	Thr462, Tyr445, Trp695
Antiinflamasi	COX-2 (5IKR)	Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester	-5,2	Val349, Leu352, Tyr385, Phe518, Ala527, Leu531
		Phenylethyl alcohol	-5,2	Leu352, Tyr385, Trp387, Val523, Ala527

Senyawa Potensial sebagai Antioksidan

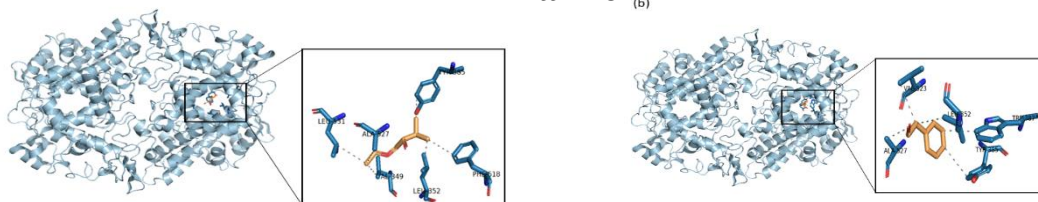
Hasil *docking* menggunakan reseptor antioksidan 50OX menunjukkan adanya ikatan antara protein dengan senyawa arak beras lokal fermentasi yang memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan (Gambar 5). Senyawa phenylethyl alcohol menunjukkan nilai *binding affinity* sebesar -5,8 kcal/mol dengan ikatan residu asam amino Thr462, Tyr445, Trp695 (Tabel 3). Hasil *docking* ini menunjukkan bahwa senyawa phenylethyl alcohol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dikarenakan memiliki *binding affinity* bernilai negatif dan juga beberapa residu asam amino yang berikatan pada daerah yang dapat membentuk konformasi ikatan (Nurjannah *et al.*, 2024).



Gambar 5. Kompleks pengikatan antara ligan dan reseptor senyawa phenylethyl alcohol-NADPH oksidase. Konformasi ikatan divisualisasikan menggunakan program *Protein Ligand Interaction Profiler* (PLIP) dan dikombinasikan dengan program pymol v 2.3.

Senyawa Potensial sebagai Antiinflamasi

Hasil *docking* menggunakan reseptor antiinflamasi 5IKR menunjukkan adanya ikatan antara protein dengan dua jenis senyawa arak beras yang memiliki potensi sebagai senyawa antiinflamasi (Gambar 6). Senyawa butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester dan phenylethyl alcohol menunjukkan nilai *binding affinity* yang sama yaitu -5,2 kcal/mol dengan ikatan residu asam amino Val349, Leu352, Tyr385, Phe518, Ala527, Leu531 dan Leu352, Tyr385, Trp387, Val523, Ala527 (Tabel 3). Hasil *docking* ini menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut memiliki aktivitas antiinflamasi berdasarkan *binding affinity* yang bernilai negatif dan juga beberapa residu asam amino yang berikatan pada daerah yang dapat membentuk konformasi ikatan (Nurjannah *et al.*, 2024).



Gambar 6. Kompleks pengikatan antara ligan dan reseptor senyawa (a) Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester-COX2 (b) Phenylethyl Alcohol-COX2. Konformasi ikatan divisualisasikan menggunakan program *Protein Ligand Interaction Profiler* (PLIP) dan dikombinasikan dengan program pymol v 2.3.

SWISS ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) digunakan untuk memprediksi ADME (Swiss Institute of Bioinformatics, 2023), dengan parameter Lipinski diterapkan untuk mengevaluasi hasil ADME (Tabel 4). Tujuan dari analisis ADME adalah untuk menilai farmakokinetik dari senyawa

arak beras yang dipilih, yang merupakan langkah krusial untuk memastikan senyawa tersebut aman bagi tubuh manusia (Morcoss *et al.*, 2020).

Tabel 4. Hasil analisis ADME dan Lipinski

Keterangan	Nama Senyawa					
	Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester	Ethyl dl-2-hydroxycaproate	Phenylethyl alcohol	Benzyl methyl ketone	Butanedioic acid, diethyl ester	4-Hydroxy-2-methylbenzoic acid
Berat Molekul (g/mol)	146.18	160.21	122.16	134.18	174.19	152.15
Hydrogen Bond Acceptors	3	3	1	1	4	3
Hydrogen Bond Donors	1	1	1	0	0	2
Kelarutan air	Mudah larut	Cukup larut	Cukup larut	Cukup larut	Cukup larut	Cukup larut
GI Absorption	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi
BBB permeant	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Bioavailability	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.85

Lipinski's Rule of five :

1. < 5 hydrogen bond donors, 2. < 10 hydrogen bond acceptor

Hasil analisis menunjukkan bahwa keenam senyawa aktif arak beras, yaitu butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester; ethyl dl-2-hydroxycaproate; phenylethyl alcohol; benzyl methyl ketone; butanedioic acid, diethyl ester; dan 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid, memenuhi semua kriteria Lipinski. Sesuai dengan standar interpretasi Lipinski, jika semua parameter terpenuhi, maka senyawa aktif dinyatakan memenuhi standar kemiripan obat per oral (Lipinski *et al.*, 2012). Selain memiliki beragam aktivitas terapeutik seperti antiinflamasi, antidiabet, antioksidan, dan antimikroba, hasil ADME dan Lipinski dapat mendukung pengujian lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa bioaktif dalam arak beras lokal untuk dimanfaatkan sebagai obat alami dari produk lokal.

Senyawa terpilih dalam arak beras memenuhi semua kriteria Lipinski, dengan kriteria ADME mencakup kelarutan dalam air, absorpsi gastrointestinal (GI), bioavailability tinggi, dan kemampuan untuk menembus blood brain barrier (BBB). Kelarutan dalam air merupakan faktor penentu kemampuan senyawa aktif untuk mencapai protein target. Senyawa aktif dengan kelarutan tinggi dalam air cenderung mengalami kesulitan dalam menembus membran sel yang terdiri dari lipid, sedangkan senyawa aktif yang tidak larut dalam air akan menghadapi tantangan dalam distribusi di sirkulasi sistemik. Parameter absorpsi GI sangat krusial untuk obat yang diberikan secara oral, karena harus melewati saluran gastrointestinal dan diserap oleh usus halus sebelum didistribusikan melalui aliran darah ke targetnya. Bioavailability menunjukkan seberapa cepat senyawa aktif mencapai sirkulasi darah sistemik, dan obat yang diberikan secara oral harus memiliki bioavailability yang tinggi agar dapat memberikan efek terapeutik yang diinginkan. Parameter terakhir adalah kemampuan senyawa untuk menembus sawar otak atau BBB, yang merupakan syarat penting bagi obat yang ditujukan untuk bekerja di sistem saraf pusat (Arief dan Hairunnisa, 2022; Labibah dan Rusdiana, 2022).

Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester merupakan senyawa yang mudah larut dalam air, sedangkan ethyl dl-2-hydroxycaproate, phenylethyl alcohol, benzyl methyl ketone, butanedioic acid, diethyl ester, dan 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid memiliki tingkat kelarutan air yang sedang. Kelarutan senyawa dalam air merupakan salah satu sifat fisikokimia yang sangat penting untuk mengoptimalkan proses kimia. Umumnya, kandidat obat harus memiliki kelarutan minimal 10 μ M agar dapat mendukung pengujian praklinis (Fink *et al.*, 2020). Selain itu, standar untuk pengembangan obat

yang dapat dikonsumsi secara oral adalah memiliki kemampuan absorpsi yang baik di saluran pencernaan dan bioavailabilitas yang tinggi (Arief dan Hairunnisa, 2022). Penelitian menunjukkan bahwa enam jenis senyawa aktif dari arak beras lokal telah memenuhi kriteria tersebut. Namun, perlu diperhatikan adanya faktor eksternal lainnya yang memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan pemahaman yang lebih mendalam.

Webserver Pro-Tox (<https://tox.charite.de/protox3/>) digunakan untuk memperkirakan tingkat toksisitas dari senyawa aktif terpilih yang terdapat pada arak beras. Parameter yang digunakan dalam analisis ini adalah dosis toksik atau Lethal Dose 50 (LD50) yang dinyatakan dalam mg/kg berat badan, serta klasifikasi toksisitas yang mengikuti sistem pelabelan bahan kimia yaitu globally harmonized system (GHS) (Drwal *et al.*, 2021). Hasil dari prediksi toksisitas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis prediksi toksisitas

Keterangan	Nama Senyawa					
	Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester	Ethyl dl-2-hydroxycaproate	Phenylethyl alcohol	Benzyl methyl ketone	Butanedioic acid, diethyl ester	4-Hydroxy-2-methylbenzoic acid
Prediksi LD ₅₀ (mg/kgBB)	2.000	8.100	800	2.000	891	2.000
Prediksi Toksisitas (kelas)	4	6	4	4	4	4

Hasil prediksi toksisitas pada Tabel 5, ethyl dl-2-hydroxycaproate merupakan senyawa aktif paling aman dengan LD50 8.100 mg/kgBB yang termasuk dalam kelas 6, yaitu kelas yang paling aman untuk digunakan. Senyawa lainnya diurutkan dari yang tertinggi sampai terendah dalam hal keamanan. Laporan kami menunjukkan bahwa senyawa ethyl dl-2-hydroxycaproate memiliki potensi yang menarik untuk dikaji, meskipun aktivitas biologisnya sebagai senyawa aktif terapeutik belum sepenuhnya terungkap. Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi lebih mendalam mengenai mekanisme kerjanya.

KESIMPULAN

Produk arak beras lokal menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan mengandung GABA hingga 78,531 mg/100 mL, yang dapat membantu mengatur stres dan kecemasan, serta memiliki sifat antibiofilm terhadap bakteri patogen seperti *E. coli* dan *Listeria* sp. Melalui analisis GC-MS, sembilan senyawa teridentifikasi dalam arak beras lokal. Senyawa butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester, dan phenylethyl alcohol berfungsi sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan, sedangkan butanedioic acid, diethyl ester, dan 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid berpotensi sebagai antidiabetes. Simulasi *docking* menunjukkan bahwa 4-hydroxy-2-methylbenzoic acid dan butanedioic acid, diethyl ester memiliki potensi sebagai antidiabetes, sedangkan phenylethyl alcohol menunjukkan aktivitas antioksidan. Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester, dan phenylethyl alcohol juga berpotensi sebagai senyawa antiinflamasi. Semua senyawa yang diuji memenuhi kriteria Lipinski, menandakan potensi mereka sebagai obat per oral. Analisis ADME menunjukkan kelarutan yang bervariasi dan kemampuan absorpsi yang baik, yang penting untuk efektivitas terapeutik. Prediksi toksisitas mengindikasikan bahwa ethyl dl-2-hydroxycaproate adalah senyawa paling aman dengan LD50 tertinggi. Penelitian ini memberikan dasar yang kuat untuk mengeksplorasi lebih lanjut potensi terapeutik senyawa bioaktif dari arak beras lokal suku Dayak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bapak Jimmi, warga Desa Serukam, Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat yang telah memberikan informasi dengan baik dan lengkap tentang nilai budaya dan proses pembuatan arak beras lokal hasil fermentasi serta laboratorium genomik, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia yang telah memfasilitasi dan mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Marzoqi, A. H., Hameed, I. H., & Idan, S. A. (2015). Analysis of bioactive chemical components of two medicinal plants (*Coriandrum sativum* and *Melia azedarach*) leaves using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *African Journal of Biotechnology*, 14(40), 2812–2830.
- Amor, I. L., Boubaker, J., Ben, M., Skandrani, I., Bhouri, W., Neffati, A., Kilani, S., Bouhlef, I., & Ghedira, K. (2019). Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 125, 183–202.
- Arief, I., & Hairunnisa, H. (2022). Profil ADME dari entitas molekul baru yang disetujui oleh FDA tahun 2021: Suatu kajian in silico. *Jambura Journal of Chemistry*, 4(2), 1–11.
- Bachtar, Z., Mustopa, A. Z., Astuti, R. I., Fauziyah, F., Fatimah, F., Rozirwan, R., Wulandari, T. N. M., Wijaya, D. P., Agustriani, F., Arwansyah, A., Irawan, H., & Mamangkey, J. (2023). Production of codon-optimized Factor C fragment from *Tachypleus gigas* in the *Pichia pastoris* GS115 expression system for endotoxin detection. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 103.
- Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Moser, C., & Høiby, N. (2011). *Biofilm infections*. Springer.
- Cai, H., Zhang, Q., Shen, L., Luo, J., Zhu, R., Mao, J., Zhao, M., & Cai, C. (2019). Phenolic profile and antioxidant activity of Chinese rice wine fermented with different rice materials and starters.
- Dadkhah, A., Fatemi, F., Malayeri, M. R. M., Ashtiyani, M. H. K., Nouredini, S. K., & Rasooli, A. (2019). Considering the effect of *Rosa damascena* Mill. essential oil on oxidative stress and COX-2 gene expression in the liver of septic rats. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 416–424.
- Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. (2012). Production of GABA (γ -aminobutyric acid) by microorganisms: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1230–1241.
- Drwal, M., Banerjee, P., Wettig, M., Erehman, J., Dunkel, M., & Preissner, R. (2021). ProTox II- Prediction of toxicity of chemicals.
- Fink, C., Sun, D., Wagner, K., Schneider, M., Bauer, H., Dolgos, H., Mäder, K., & Peters, S. A. (2020). Evaluating the role of solubility in oral absorption of poorly water-soluble drugs using physiologically-based pharmacokinetic modeling. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 107(3), 650–661.
- Gayathri, M., & Kannabiran, K. (2009). Antidiabetic activity of 2-hydroxy 4-methoxy benzoic acid isolated from the roots of *Hemidesmus indicus* on streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 17(2), 53–57.
- Ghaly, H. K. F., Younis, F. A. A. Y., Soliman, A. M., El-Sabbagh, S. M. (2025). Phytochemical and antibacterial properties of calyces *Hibiscus sabdariffa* L.: An in vitro and in silico multitarget-mediated antibacterial study. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 25, 62.
- Han, F. L., & Xu, Y. (2011). Identification of low molecular weight peptides in Chinese rice wine (Huang Jiu) by UPLC-ESI-MS/MS. *Journal of the Institute of Brewing*, 117(2), 238–250.
- Hao, Y. F., Li, J. X., Zhao, Z. H., Xu, W., Wang, L., Lin, X., ... & Li, C. F. (2023). Flavor characteristics of Shanlan rice wines fermented for different time based on HS-SPME-GC-MS-O, HS-GC-IMS, and electronic sensory analyses. *Food Chemistry*, 432.
- Izquierdo-Vega, J. A., Arteaga-Badillo, D. A., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J. A., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar,

- E., & Madrigal-Santillán, E. (2020). Organic acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.): A brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines*, 8(5), 100–115.
- Kittibunchakul, S., Yuthaworawit, N., Whanmek, K., Suttisansanee, U., & Santivarangkna, C. (2021). Health beneficial properties of a novel plant-based probiotic drink produced by fermentation of brown rice milk with GABA-producing *Lactobacillus pentosus* isolated from Thai pickled weed. *Journal of Functional Foods*, 86, 104710.
- Labibah, L., & Rusdiana, T. (2022). Hubungan jenis kelamin terhadap eksipien farmasi dalam mempengaruhi bioavailabilitas obat. *Majalah Farmasetika*, 7(3), 176.
- Lahkar, V., Saikia, L., Patgiri, S. J., Nath, R., & Das, P. P. (2017). Estimation of biofilm, proteinase & phospholipase production of the *Candida* species isolated from the oropharyngeal samples in HIV-infected patients. *The Indian Journal of Medical Research*, 145(5), 635.
- Lee, N. K., Hong, J. Y., Yi, S. H., Hong, S. P., Lee, J. E., & Paik, H. D. (2019). Bioactive compounds of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from cucumber jangajji. *Journal of Functional Foods*, 58, 324–329.
- Liszkowska, W., & Berłowska, J. (2021). Yeast fermentation at low temperatures: Adaptation to changing environmental conditions and formation of volatile compounds. *Molecules*, 26(4), 1035.
- Lu, Q.-Y., Lee, R.-P., Huang, J., Yang, J., Henning, S. M., Hong, X., ... & Li, Z. (2015). Quantification of bioactive constituents and antioxidant activity of Chinese yellow wine. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 86–92.
- Luo, F., Li, L., Wu, Z. Y., Yang, J., Yi, X., & Zhang, W. X. (2018). Development of new red mold rice and determination of their properties. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 259–265.
- Madar, U., Bhat, S. S., Shinde, S., Thangadurai, D., Chippalakatti, P., Banapurmath, N. R., Badruddin, I. A., & Kamangar, S. (2025). A comprehensive analysis of nutritional, phytochemical, and antioxidant benefits of an underutilized fruit *Tetrastigma leucostaphylum*. *Scientific Reports*, 15(1), 14866.
- Majid, M., Ganai, B. A., & Wani, A. H. (2025). Antifungal, antioxidant activity, and GC–MS profiling of *Diaporthe amygdali* GWS39: A first report endophyte from *Geranium wallichianum*. *Current Microbiology*, 82, 40.
- Maksoud, M. I. A. A., El-Sayyad, G. S., El-Bastawisy, H. S., & Fathy, R. M. (2024). Expression of concern: Antibacterial and antibiofilm activities of silver-decorated zinc ferrite nanoparticles synthesized by a gamma irradiation-coupled sol-gel method against some pathogenic bacteria from medical operating room surfaces. *RSC Advances*, 14(24), 17295.
- Malina, R., Yamin, A., Anwar, I., Jannah, S. R. N., Sida, N. A., & Nafiah, A. (2024). Uji antiinflamasi daun maja (*Aegle marmelos* L.) menggunakan metode penghambatan denaturasi protein. *Jurnal Mandala Pharmacology Indonesia*, 10(2), 637–645.
- Mgbeje, B. I. A., Abu, C., Ugoanyanwu, F. O., & Ebong, P. E. (2020). Towards establishing chemical markers for antidiabetic plants: A comparative analysis of the chemical fingerprints of three validated antidiabetic plants, *Nauclea latifolia*, *Azadirachta indica*, and *Moringa oleifera*.
- Morcos, M. M., Abdelhafez, E. S. M. N., Ibrahim, R. A., Abdel-Rahman, H. M., Abdel-Aziz, M., & Abou El-Ella, D. A. (2020). Design, synthesis, mechanistic studies and in silico ADME predictions of benzimidazole derivatives as novel antifungal agents. *Bioorganic Chemistry*, 101, 103956.
- Nurjannah, K. A. I., Mustopa, A. Z., Masniawati, A., Fatimah, F., Irawan, H., Wibowo, D. S., Manguntungi, B., Mamangkey, J., Juansilfero, A. B., Mahrup., Mazaya, M., Johannes, E., & Bachtiar, Z. (2024). Nutritional profiling and in silico analysis of pharmacological activities from local rice Pulu Mandoti fermented with *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 40(6):187.
- Pahlawan, A. A., Sunardi, G., & Wuryani, E. (2023). Makna tuak dalam adat pernikahan masyarakat Dayak Pesaguan dan nilai-nilai kearifan lokal. *Jurnal Nusantara Raya*, 2(1), 1–6.

- Rahman, M. M., Al Noman, M. A., Khatun, S., Alam, R., Shetu, M. M. H., Talukder, E. K., Imon, R. R., Biswas, M. Y., Anis-Ul-Haque, K. M., Uddin, M. J., & Akhter, S. (2023). Evaluation of *Senna tora* (L.) Roxb. leaves as a source of bioactive molecules with antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial potential. *Heliyon*, 9(1), e12855.
- Raj, A., Chakravorty, A., Luktuke, S., Santra, S., Das, S., Sahoo, S., Ramesh, K., Ali, N.F., Sana, S.S., Jayanthi, S., Samanta, A., Raghavan, V. (2025). Anti-inflammatory Potential of *Costus speciosus* rhizome Bioactive Phytochemicals: A Combined GC-MS and Computational Approach Targeting TLR-4 Signaling. *Current Computer-Aided Drug Design*, 21(3), 285-301.
- Rashmi, D., Zanan, R., John, S., Khandagale, K., & Nadaf, A. (2018). γ -Aminobutyric acid (GABA): Biosynthesis, role, commercial production, and applications. In A. ur Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (pp. 413–452). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Reddy, A., Kumar, P., & Singh, R. (2020). GC-MS analysis and in-vitro anti-diabetic activity of bioactive fractions of *Feronia elephantum* fruit. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(5), 2415-2424.
- Seo, S. H., Park, S. E., Yoo, S. A., Lee, K. I., Na, C. S., & Son, H. S. (2016). Metabolite profiling of Makgeolli for the understanding of yeast fermentation characteristics during fermentation and aging. *Process Biochemistry*, 51(10), 1363–1373.
- Sharaibi, O. J., Omolokun, K. T., Oluwa, O. K., Ogbe, A. A., & Adebayo, A. O. (2023). Comparative studies of chemical compositions and antioxidant potentials of *Dysphania ambrosioides* L. (Amaranthaceae) and *Hybanthus enneaspermus* (L.) F. Muell (Violaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(1), 573–581.
- Swiss Institute of Bioinformatics. (2023). *SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness, and medicinal chemistry friendliness of small molecules*. Retrieved from [SwissADME website](http://www.swissadme.ch).
- Xu, E. B., Wu, Z. Z., Long, J., Wang, F., Xu, X. M., Jin, Z. Y., Jiao, A. (2015). Improved bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity of glutinous rice and its fermented Chinese rice wine by simultaneous extrusion and enzymatic hydrolysis. *Journal of Functional Foods*, 17, 214–226.
- Yogeswara, I. B. A., Kittibunchakul, S., Rahayu, E. S., Domig, K. J., Haltrich, D., & Nguyen, T. H. (2021). Microbial production and enzymatic biosynthesis of γ -aminobutyric acid (GABA) using *Lactobacillus plantarum* FNCC 260 isolated from Indonesian fermented foods. *Processes*, 9(1), Article 22.
- Zhou, M., Bu, T., Zheng, J., Liu, L., Yu, S., Li, S., & Wu, J. (2021). Peptides in brewed wines: Formation, structure, and function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(9), 2647–2657.