

Antioxidant Activity of VCO-Clove Topical Oil and Predictive Interaction toward Prostaglandin-endoperoxide Synthase 2

Dewa A. I. Pramitha^{1*}, Agung A. C. Wibawa¹, Ketut A. Adrianta², Ni Wayan R. Samidya¹

¹Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Bali, Indonesia

²Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Bali, Indonesia

Abstract

Pain is a prevalent symptom of various diseases, characterized by subjective sensory and emotional experiences, often triggered by nerve irritation and pain receptor activation. Prostaglandins play a crucial role as chemical mediators in pain mechanisms. Clove oil-based liniment is commonly used for pain relief, with eugenol as its main active compound. This study investigates the antioxidant activity of VCO-clove liniment with different clove proportions using the DPPH method and evaluates the analgesic potential of eugenol through its interaction with the PTGS2 receptor through in-silico analysis. VCO-clove liniment was formulated with varying clove weight ratio (1:10, 5:10, and 10:10 w/v). Antioxidant activity was evaluated in-vitro using DPPH assay, while the interaction between eugenol and PTGS2 (PDB code: 5KIR) was predicted using molecular docking. The results demonstrated that the 10:10 ratio exhibited the highest antioxidant activity, with an IC_{50} value of 40.33 $\mu\text{g/mL}$ and an antioxidant activity index (AAI) of 0.99, classified as moderate. In-silico analysis revealed strong binding between eugenol and PTGS2, with a binding energy of -5.22 kcal/mol, suggesting its analgesic potential. In conclusion, VCO-clove liniment shows promise as an antioxidant and analgesic agent, with the 10:10 ratio displaying optimal antioxidant properties, and eugenol contributing significantly to its analgesic effects through PTGS2 interaction.

Keywords: Analgesic, antioxidant, clove (*Syzygium aromaticum* L.), PTGS2, VCO (Virgin Coconut Oil)

Aktivitas Antioksidan Minyak Gosok VCO-Cengkeh serta Prediksi Interaksinya terhadap Prostaglandin-endoperoxide synthase 2

Abstrak

Nyeri adalah gejala penyakit umum yang bersifat subjektif secara sensorik dan emosional yang dipicu oleh iritasi ujung saraf dan aktivasi reseptor nyeri. Salah satu mediator kimia yang bertanggung jawab dalam mekanisme nyeri adalah prostaglandin. Minyak gosok berbasis minyak cengkeh sering digunakan untuk meredakan nyeri, dengan eugenol sebagai senyawa aktif utama. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan minyak gosok VCO-cengkeh dengan variasi bobot cengkeh menggunakan metode DPPH, dan mengevaluasi potensi analgesik eugenol melalui interaksi dengan reseptor PTGS2 secara *in silico*. Minyak gosok VCO-cengkeh dibuat dengan variasi rasio bobot cengkeh (1:10, 5:10, dan 10:10 b/v). Aktivitas antioksidan dianalisis dengan DPPH. Prediksi interaksi eugenol terhadap PTGS2 (kode PDB: 5KIR) dilakukan melalui penambatan molekuler. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak gosok dengan rasio 10:10 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 40,33 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai indeks antioksidan 0,99 (aktivitas sedang). Eugenol berpotensi sebagai analgesik dengan berikatan kuat pada reseptor PTGS2 yang memiliki energi ikatan sebesar -5,22 kkal/mol. Berdasarkan temuan tersebut, minyak gosok VCO-cengkeh memiliki potensi sebagai agen antioksidan dan analgesik, dengan rasio 10:10 v/v yang menunjukkan aktivitas antioksidan terbaik, serta kandungan eugenol yang berperan penting dalam aktivitas analgesik melalui interaksinya dengan reseptor PTGS2.

Kata Kunci: Analgesik, antioksidan, cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), PTGS2, VCO (*Virgin Coconut Oil*)

Article History:

Submitted 5 August 2023

Revised 10 March 2025

Accepted 11 March 2025

Published 30 June 2025

*Corresponding author:

ika.pramitha@unmas.ac.id

Citation:

Pramitha, D.A.I.; Wibawa, A.A.C.; Adrianta, K.A.; Samidya N.W.R. Antioxidant Activity of VCO-Clove Topical Oil and Predictive Interaction toward Prostaglandin-endoperoxide Synthase 2. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025; 12 (2), 219-225.

1. Pendahuluan

Nyeri adalah gejala penyakit umum yang merupakan sebuah rasa bersifat subjektif secara sensorik dan emosional yang berkaitan dengan efek rangsangan serta hasil observasi psikologis terhadap pengalaman yang terjadi. Nyeri dapat disebabkan oleh iritasi pada reseptor rasa sakit yang ditemukan pada kulit, persendian, dan banyak organ dalam. Reseptor nyeri diaktivasi dengan adanya iritasi pada ujung saraf. Mediator kimia yang bertanggung jawab dalam mengaktivasi nyeri meliputi histamin, substansi P, bradikinin, asetilkolin, leukotriene, dan prostaglandin. Selain itu, dapat juga disebabkan oleh adanya kerusakan pada sistem saraf seperti saraf tepi, otak, dan sumsum tulang belakang.¹ Ketidakseimbangan pro-oksidan dan antioksidan telah ditemukan pada pasien dengan nyeri kronis yang menunjukkan bahwa pro-oksidan dan antioksidan mungkin memiliki peran yang relevan pemrosesan nosiseptif.^{2,3}

Penanganan dalam mengatasi rasa sakit dapat menggunakan terapi obat dengan obat-obatan analgesik seperti non-opioid, opioid, dan *adjuvant*. Analgesik merupakan senyawa yang mampu menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif dan digunakan untuk mengurangi rasa sakit tanpa mempengaruhi kesadaran.^{4,5} Berdasarkan struktur kimia yang dimiliki, analgesik non-opioid atau non narkotika dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu analgesik-antipiretik dan analgesik-antiradang NSAID seperti asam meklofenamat, asam mefenamat, dan rofecoxib yang mampu menghambat terbentuknya PTGS-2 atau penghambatan COX-2.⁴⁻⁷

Bagian tanaman cengkeh. (*Syzygium aromaticum* L.) yang dapat dimanfaatkan adalah daun, bunga, dan tangkai bunga. Senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh adalah eugenol. Eugenol merupakan senyawa fenol yang sangat penting dalam industri farmasi. Eugenol memiliki aktifitas antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, analgesik, antirematik, antikonvulsan, antidepresan, serta efek antispasmodik dan antikarsinogenik.⁸⁻¹⁰ Selain itu cengkeh memiliki manfaat untuk menghangatkan, menghilangkan rasa sakit setempat, membantu mengeluarkan angin. Menurut Rarison *et al.* (2023) ekstrak lipofilik memiliki antioksidan yang kuat dan memberikan pengaruh yang kuat pada target inti PTGS-2 sebagai antiinflamasi.¹¹

Aktivitas antioksidan eugenol berkontribusi pada efek analgesiknya dengan mengurangi produksi mediator inflamasi yang diinduksi oleh stress oksidatif. Eugenol yang menunjukkan nilai IC₅₀ rendah dalam uji DPPH mengindikasikan potensi antioksidan tinggi yang mendukung perannya dalam mencegah aktivitas jalur inflamasi.¹² Data molecular docking yang menunjukkan

afinitas tinggi eugenol terhadap situs aktif COX-2 memperkuat korelasi antara aktivitas antioksidan dan analgetik.

Penggunaan cengkeh dalam sediaan obat tradisional pada umumnya digunakan sebagai minyak gosok. Minyak gosok merupakan salah satu produk sediaan farmasi yang sering digunakan untuk menghilangkan rasa gatal yang diakibatkan oleh gigitan serangga, selain itu minyak gosok memiliki efek yang menghangatkan dan mampu meredakan nyeri.¹³ Obat luar seperti minyak gosok juga merupakan salah satu produk olahan dari minyak kelapa. Pembuatan minyak gosok tidak lagi hanya menggunakan minyak kelapa tandusan sebagai bahan bakunya, namun untuk menambah khasiat dan manfaatnya maka dibuatlah suatu sediaan berupa minyak gosok dari *Virgin Coconut Oil* (VCO).¹⁴

Penelitian *in silico* yang berfokus pada eugenol menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki potensi untuk berinteraksi dengan reseptor dan enzim yang terkait dengan rasa nyeri, seperti COX-2 dan TRPV1.^{15,16} Eugenol diketahui memiliki efek penghambatan pada COX-2 yang berperan dalam sintesis prostaglandin sebagai mediator utama nyeri inflamasi.^{15,17} Namun, belum ditemukan aktivitas eugenol secara *in silico* dengan reseptor PTGS-2 (kode: 5KIR).

Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki efek antioksidan dari minyak gosok berbasis VCO yang diformulasikan dengan berbagai bobot cengkeh menggunakan metode DPPH. Selain itu, studi ini juga mengeksplorasi potensi analgesik eugenol melalui interaksi molekuler dengan reseptor PTGS2 secara *in silico*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan mengenai formulasi optimal minyak gosok berbasis VCO-cengkeh serta mendukung pemanfaatan eugenol sebagai kandidat agen analgesik yang lebih efektif.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi botol vial, kertas saring Whatman No.1, gelas ukur (Pyrex), erlenmeyer (Herma), pipet tetes, ayakan 40 mesh, beaker glass (Pyrex), termometer, corong kaca, pipet mikro, labu ukur (Herma), *hot plate* dan *stirrer*, *stopwatch*, timbangan analitik (Shimadzu AUW220D), blender (cosmo), corong (pyrex), toples, ultrasonic cleaner (VGT-1730QTD), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu/UV-1800), laptop ASUS A409JA-EK351TSFHD dengan prosesor Intel CORE i3, RAM 4GB, penyimpanan SSD 512GB, Windows 10 (64 bit) yang dilengkapi dengan program seperti AutoDock

Tools versi 1.5.7, MarvinSketch versi 22.19 2022 dari ChemAxon®, Chimera versi 1.16, OpenBabel, PyMOL, *Discovery Studio Visualizer* v21.1.0.20298. Selain itu, menggunakan website pkCSM untuk memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas molekul yang dapat diakses di <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari simplisia cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) diperoleh dari CV. Merapi Farma Herbal Yogyakarta, VCO (diproduksi dengan fermentasi alami¹³), standar eugenol (Sigma Aldrich 35995) metanol (Merck 1.06009.2500), DPPH (Smartlab), untuk analisis molecular docking menggunakan makromolekul PTGS-2 sebagai protein target yang diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) yang dapat diakses melalui <https://www.rcsb.org/structure/5KIR> dengan PDB ID 5KIR. Struktur kimia dua dimensi Rofecoxib dengan kode Pubchem CID: 5090, digunakan sebagai senyawa pembanding yang dapat diakses secara online melalui (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5090>). Senyawa uji, yaitu eugenol dengan kode Pubchem CID: 3314 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3314>).

2.3. Prosedur

2.3.1. Pembuatan Minyak Herbal VCO Cengkeh

Simplisia cengkeh diperoleh dari CV. Merapi Farma Herbal Yogyakarta, diblender lalu diayak dengan menggunakan ayakan 40 mesh. Selanjutnya serbuk cengkeh ditimbang sebanyak 3 kali replikasi dengan perbandingan sampel dan pelarut (VCO) yaitu 10 gr sampel:100 mL VCO; 50 gr sampel:100 mL VCO dan 100 gr sampel: 100 mL VCO. Kemudian dilakukan pemanasan selama 8 jam sambil terus diaduk menggunakan *hot plate* dan *stirrer* dengan kecepatan 500 rpm pada suhu 40°C lalu dimaserasi selama 24 jam. Setelah proses maserasi selesai, kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring Whatman No.1.

2.3.2. Analisis Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan standar eugenol yang sebagai pembanding serta sampel masing-masing dibuat 5 variasi konsentrasi yang berbeda dengan pelarut methanol. Analisis aktivitas antioksidan secara in-vitro dengan DPPH sebagai sumber radikal bebas dilakukan dengan cara larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 2 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 2 mL larutan standar dan juga sampel dari masing-masing konsentrasi, diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu diamati absorbansinya pada

panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm secara bergantian pada kelima konsentrasi. Cara yang sama juga dilakukan untuk kontrol menggunakan metanol. Mengukur kekuatan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) dengan persamaan berikut ini:

$$AAI = \frac{\text{konsentrasi DPPH}}{IC_{50}}$$

2.3.3. Analisis Molekular Docking

Persiapan Struktur

Struktur kimia eugenol digambar menggunakan MarvinSketch untuk 2D dan Chimera untuk 3D. Struktur disimpan dalam format “.pdb” dan “.mol2”.

Struktur protein target (PTGS2) (kode: 5KIR) diunduh dari Protein Data Bank (PDB) dalam format “.pdb” dan dipreparasi menggunakan AutoDock Tools dengan menghilangkan ligan asli, molekul air, dan menambahkan hidrogen serta muatan Kollman.

Struktur ligan RCX (Rofecoxib) diunduh dari PubChem dan dikonversi menjadi format “.pdb” menggunakan OpenBabel.

Prosedur Molecular Docking

Validasi metode dilakukan dengan mendocking ulang ligan asli ke protein target untuk memastikan RMSD < 2,0 Å.

Docking dilakukan menggunakan AutoDock Tools dengan pengaturan grid box berdasarkan hasil validasi.

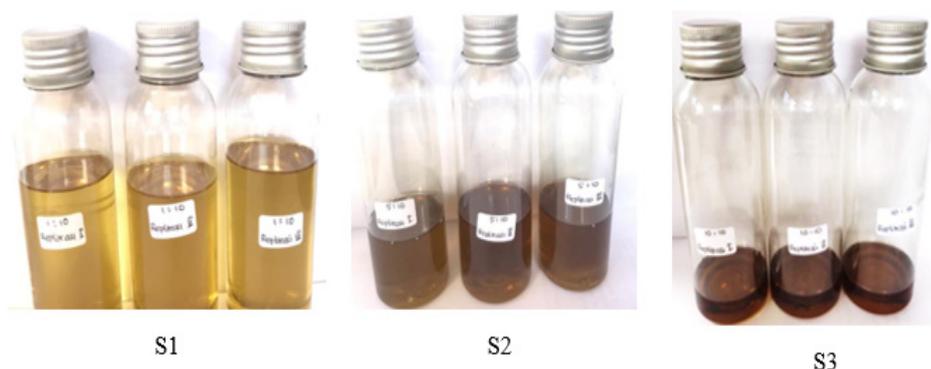
Analisis Hasil Docking

Hasil docking dianalisis berdasarkan energi bebas ikatan dan divisualisasikan menggunakan Discovery Studio Visualizer untuk mengidentifikasi interaksi residu penting pada protein target.

3. Hasil

3.1. Aktivitas Antioksidan

Hasil sediaan minyak gosok kombinasi VCO-Cengkeh dapat diamati pada Gambar 1 yang memiliki aroma khas cengkeh, warna mulai dari kuning hingga coklat. Gambar 1 menunjukkan bahwa warna sediaan minyak gosok kombinasi VCO-cengkeh dengan rasio penggunaan simplisia cengkeh dan VCO mulai dari 1:10, 5:10, dan 10:10 didapatkan dari banyaknya senyawa aktif yang terekstraksi dalam VCO.^{18,19}



Gambar 1. Minyak gosok VCO-cengkeh dengan variasi rasio massa simplisia cengkeh dan volume VCO (S1) 1:10; (S2) 5:10; (S3) 10:10

Nilai IC_{50} dan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) pada sampel minyak gosok dan pembanding ditunjukkan pada Tabel 1. Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada analisis ini. Hasil antioksidan dari setiap sediaan memiliki aktivitas dan kekuatan kemampuannya masing-masing. Tabel 1 menunjukkan bahwa minyak gosok VCO-cengkeh formulasi S3 (10:10) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan formulasi S1 (1:10) dan S2 (5:10), namun tidak lebih tinggi dibandingkan dengan Vitamin C. Jika dilihat berdasarkan nilai AAI yang menunjukkan indeks aktivitas antioksidan, kekuatan aktivitas antioksidan pada formulasi S1 (minyak gosok dengan rasio 1:10) memiliki kekuatan yang lemah dibandingkan dengan S2, S3 ataupun standar Eugenol. Penggolongan aktivitas antioksidan dapat dinilai berdasarkan nilai AAI yaitu AAI <0,5 (tergolong lemah), 0,5 – 1 (tergolong sedang), 1 – 2 (tergolong kuat), dan >2 (tergolong sangat kuat).²⁰

3.2. Validasi Metode Molekular Docking

Hasil *redocking* struktur kristal 5KIR dapat diamati pada Gambar 2 yang menunjukkan hasil validasi struktur kristal ligan asli 5KIR (ditampilkan dalam warna gold) dan ligan hasil re-docking (ditampilkan dalam warna biru). Berdasarkan analisis, nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang diperoleh adalah 0,00 Å. Hasil ini mengindikasikan bahwa metode molekular docking yang digunakan sangat akurat, karena posisi ligan hasil *redocking* sepenuhnya identic dengan posisi ligan asli dalam struktur kristal. Dengan nilai tersebut,

validasi metode docking dapat dianggap valid untuk digunakan dalam analisis selanjutnya.

3.3. Molecular Docking

Hasil *Binding Energi* yang diperoleh dari interaksi senyawa Eugenol dengan reseptor PTGS2 pada kode 5KIR (*unique ligand*: RCX) ditampilkan pada Tabel 2, sedangkan visualisasi interaksi dapat dilihat pada Gambar 3. Dari data hasil pengujian molekular docking terhadap senyawa eugenol menunjukkan bahwa eugenol memiliki ikatan yang kuat pada reseptor PTGS2 khususnya pada kode reseptor 5KIR karena memiliki nilai *binding energy* sebesar -5,22 kkal/mol. Namun, nilai *binding energy* pada eugenol tidak lebih kuat dengan nilai *binding energy* pada ligan asli 5KIR yaitu Rofecoxib sebesar -10,40 kkal/mol. Hasil visualisasi eugenol terhadap PTGS-2 terlihat adanya dua ikatan hydrogen yaitu Tyr355 dan SerA353 serta delapan ikatan non-hydrogen yaitu Ala516, Ile517, Trp387, Met522, Phe518, Leu352, Val523, Gln192, sedangkan antara ligan asli 5KIR yaitu rofecoxib dengan PTGS-2 memiliki satu ikatan hydrogen yaitu Arg513 dan enam ikatan non-hydrogen yaitu Leu352, Ala527, Val349, Val523, Ser353, dan His90. Rofecoxib dan eugenol memiliki ikatan non-hydrogen yaitu pi-sigma pada asam amino yang sama, yaitu Val523. Kesamaan residu interaksi ini mengindikasikan bahwa eugenol dapat meniru sebagian mekanisme pengikatan rofecoxib, sehingga berpotensi sebagai agen alternatif dalam modulasi aktivitas PTGS2.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Senyawa Pembanding dan Sampel Uji

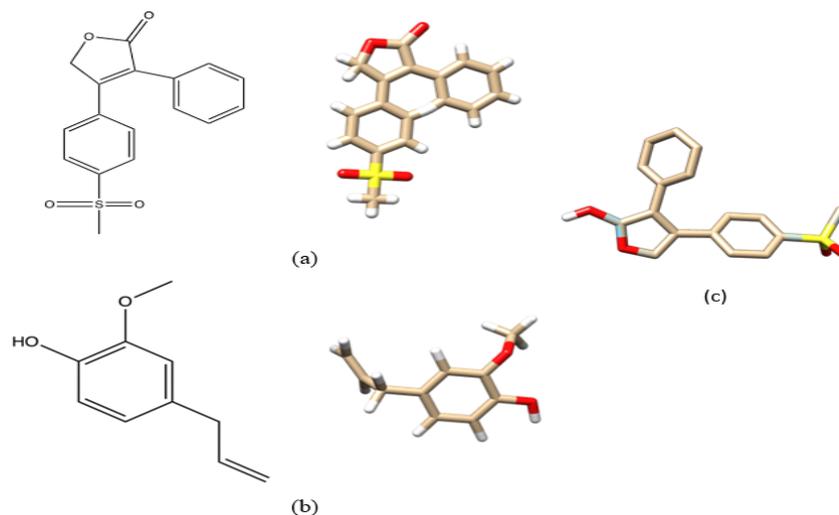
Nama Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	AAI	Kekuatan
Vitamin C	4,10	9,76	Sangat Kuat
S1	333,64	0,12	Lemah
S2	85,95	0,47	Sedang
S3	40,33	0,99	Sedang

Keterangan:

S1 = Minyak Gosok (1:10)

S2 = Minyak Gosok (5:10)

S3 = Minyak Gosok (10:10)



Gambar 2. Struktur 2D dan 3D (a) Rofecoxib (b) Eugenol, dan (c) Validasi struktur kristal ligan asli 5KIR (gold) dan ligan re-docking (biru) RMSD 0,00Å

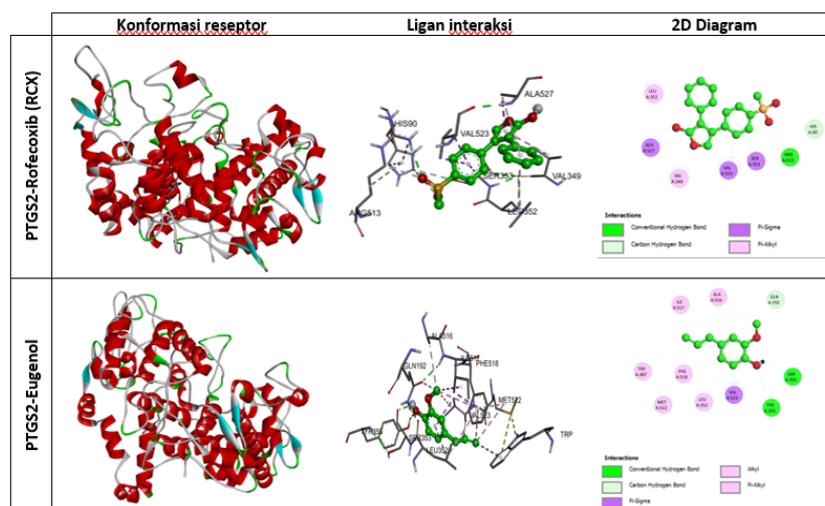
4. Pembahasan

Sediaan minyak gosok kombinasi VCO-cengkeh menunjukkan variasi warna dari kuning hingga coklat, yang mencerminkan banyaknya senyawa aktif yang berhasil terekstraksi. Warna ini, seperti yang terlihat pada Gambar 1, dipengaruhi oleh rasio simplisia cengkeh terhadap VCO yaitu rasio yang lebih tinggi menghasilkan warna yang lebih pekat.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa formulasi S3 (10:10) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan formulasi S1 1:10) dan S2 (5:10). Nilai IC_{50} pada S3 mendekati batas yang menunjukkan aktivitas tinggi, meskipun masih lebih rendah dibandingkan dengan Vitamin C sebagai pembanding. Berdasarkan nilai AAI, aktivitas antioksidan S3 tergolong sedang (0,99), sedangkan formulasi S1 menunjukkan kekuatan yang lemah (AAI < 0,5). Perbedaan aktivitas ini menunjukkan

bahwa peningkatan rasio cengkeh dalam formulasi berkontribusi pada peningkatan jumlah senyawa aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. Meningkatnya kekuatan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh minyak gosok pada setiap formulasi kemungkinan juga dikarenakan kadar eugenol pada formulasi S3 terekstraksi lebih banyak dibandingkan dengan S1 dan S2. Banyaknya zat aktif yang terekstraksi disebabkan banyaknya jumlah simplisia yang dilarutkan dalam pelarut.²¹

Pada penelitian ini tidak dilakukan analisis fitokimia secara terperinci untuk mengidentifikasi dan mengukur kandungan senyawa aktif lain yang mungkin berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan dan analgesik. Namun berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah kami lakukan, kami menemukan komponen utama pada minyak oles VCO-cengkeh dengan variasi suhu pemanasan. adalah eugenol.²²



Gambar 3. Struktur 3D dan 2D interaksi antara rofecoxib (atas) dan eugenol (bawah) dengan reseptor PTGS-2

Tabel 2. Hasil Docking Rofecoxib (ligan asli 5KIR: RCX) dan Eugenol

Senyawa	Energi (kkal/mol)	Interaksi Residu Asam Amino	
		Ikatan Hidrogen	Ikatan Non-Hidrogen
Rofecoxib (RCX)	-10,40	Arg513	Leu352; Ala527; Val349; Val523 ; Ser353; His90
Eugenol	-5,22	Tyr355; SerA353	Ala516; Ile517; Trp387; Met522; Phe518; Leu352; Val523 ; Gln192

Analisis molekular *docking* yang kami kerjakan pada penelitian ini hanya menggunakan senyawa eugenol dan tidak mengevaluasi senyawa lain dalam minyak gosok VCO-cengkeh yang mungkin memiliki aktivitas biologis serupa atau bahkan lebih. Hasil validasi molekular *docking* yang ditampilkan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa metode *molecular docking* yang digunakan sudah memenuhi syarat dengan nilai RMSD sebesar 0,00 Å. Dengan nilai RMSD ini, posisi ligan hasil *re-docking* sepenuhnya identic dengan posisi ligan asli dalam struktur kristal. Validasi ini memastikan bahwa metode *docking* dapat diandalkan untuk analisis lebih lanjut. Menurut Shah et al.,²³ metode *molecular docking* dikatakan valid apabila kedua pose menghasilkan nilai RMSD <2,0Å.²³

Hasil *docking* menunjukkan bahwa eugenol memiliki interaksi yang kuat dengan reseptor PTGS2 pada struktur 5KIR, dengan nilai *binding energy* sebesar -5,22 kkal/mol. meskipun nilai ini tidak lebih rendah dari ligan asli 5KIR, yaitu Rofecoxib sebesar -10,40 kkal/mol, eugenol tetap menunjukkan potensi interaksi yang signifikan. Menurut Mutiah et al.,²⁴ stabilitas ikatan yang dihasilkan pada suatu interaksi, maka semakin rendah energi ikatan bebas yang diperoleh. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksi aktivitasnya juga akan semakin signifikan.²⁴

Visualisasi interaksi (Gambar 3) menunjukkan bahwa eugenol membentuk dua (2) ikatan hydrogen dengan residu Tyr355 dan SerA353, serta delapan (8) interaksi non-hidrogen dengan residu seperti Ala516, Ile517, dan Trp387. Sebagai perbandingan, rofecoxib membentuk satu (1) ikatan hydrogen dengan residu Arg513 dan enam (6) interaksi non-hidrogen. Adanya kesamaan interaksi non-hidrogen antara eugenol dan rofecoxib pada residu Val523 (pi-sigma) mengindikasikan bahwa eugenol dapat meniru sebagian interaksi ligan asli, meskipun tidak sekuat rofecoxib. Ikatan pi-sigma merupakan salah satu jenis ikatan kovalen yang terjadi antara orbital pi dan orbital sigma dalam suatu molekul organik. Ikatan pi-sigma sering terjadi dalam senyawa aromatik. Ikatan pi dari cincin aromatik tumpang tindih dengan ikatan sigma dari ikatan tunggal atau ganda yang melekat pada cincin tersebut. Seperti contoh senyawa eugenol dengan rofecoxib yang berikatan dengan asam amino

Val523. Ikatan pi dari cincin aromatic tumpang tindih dengan ikatan sigma dari ikatan tunggal antara atom karbon di dalam cincin. Ikatan pi-sigma ini memiliki peran penting dalam menghambat PTGS-2 sehingga dapat memberikan aktivitas sebagai analgesik.

Pada penelitian ini, terlihat bahwa interaksi hidrofobik atau ikatan kovalen mendominasi. Interaksi nonkovalen (ikatan hidrogen dan halogen, gaya van Der Waals, dll.) menggunakan energi yang jauh lebih rendah daripada interaksi kovalen. Ikatan hidrogen mempengaruhi reaktivitas substrat dalam berbagai cara. Sebagai contoh, sebuah atom oksigen dari gugus karbonil dari tioketon memerlukan ikatan hidrogen bercabang yang kuat, karakter elektrofilik dari karbon yang sesuai meningkat ke arah serangan nukleofil, dibandingkan dengan ikatan hidrogen sederhana.²⁵

Pengembangan penelitian perlu dilakukan seperti analisis fitokimia, uji biologis, optimasi formulasi, kajian klinis, dan mekanisme molekularnya. Dengan pengembangan ini, minyak gosok yang berbasis VCO-cengkeh dapat berpotensi menjadi alternatif berbasis bahan alami yang efektif dan aman untuk pengelolaan nyeri dan stress oksidatif.

5. Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minyak gosok kombinasi VCO-cengkeh dengan rasio 10:10 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi diantara formulasi lainnya dengan nilai IC₅₀ sebesar 40,33 µg/mL dan AAI yaitu 0,99 yang tergolong dalam kategori sedang. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan rasio simplisia cengkeh meningkatkan kandungan senyawa aktif yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Selain itu, analisis molekular docking menunjukkan bahwa eugenol berinteraksi dengan reseptor PTGS2, meskipun kekuatan interaksinya lebih rendah dibandingkan dengan rofecoxib yaitu -5,22 kkal/mol. Temuan ini mendukung potensi minyak gosok berbasis eugenol sebagai agen analgesik alami.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa data yang dipublikasikan pada naskah ini tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak manapun.

Daftar Pustaka

1. Nelson V. Fundamentals of pain relief. In: Fundamentals of Operating Department Practice. 2015. p. 243–58.
2. Hung CY, Tan CH. TRP channels in nociception and pathological pain. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2018;1099:13–27.
3. Dehghan B, Abolhasanzadeh N, Shademan B, Nourazarian A. Deciphering pain: molecular mechanisms and neurochemical pathways—challenges and future opportunities. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2024;11.
4. Wang Z, Wu N. Developments of opioid analgesics with low addiction potential. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2024;38(7):481–95.
5. Siswandono, Soekardjo B. *Kimia Medisinal Jilid 2*. Siswandono, Soekardjo B, editors. Vol. 2. Surabaya: Airlangga University Press; 2008.
6. Adrianta KA, Santoso P, Gunawan PW, Pramitha DAI. Interactions of Perisbivalvin, Apioside, and Pelargonidine 3-Sambubioside Against PTGS2 Receptors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2022;9(2):108–16.
7. De Rosa F, Giannatiempo B, Charlier B, Coglianese A, Mensitieri F, Gaudino G, et al. Pharmacological Treatments and Therapeutic Drug Monitoring in Patients with Chronic Pain. *Pharmaceutics*. 2023;15(8).
8. Taguchi L, da Silva Machado JB, Montouro Pinheiro N, De Castro SN, Tibério I de FLC, Lopes FD, et al. Both eugenol and biseugenol treatments reduced lung alterations in an experimental model of elastase-induced pulmonary emphysema. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*. 2023;6.
9. Salsabila BAA, Yusuf AFN, Gading ACR, Prabuningrat A, Andanalusia M. Eugenol Potential in Cloves as an Analgesic: Literature Review. *Jurnal Biologi Tropis*. 2023;23(1):169–73.
10. Grespan R, Paludo M, Lemos H de P, Barbosa CP, Bersani-Amado CA, Dalalio MM de O, et al. Anti-arthritis Effect of Eugenol on Collagen-Induced Arthritis Experimental Model. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2012;35(10):1818–20.
11. Rarison RHG, Truong VL, Yoon BH, Park JW, Jeong WS. Antioxidant and Anti-Inflammatory Mechanisms of Lipophilic Fractions from *Polyscias fruticosa* Leaves Based on Network Pharmacology, In Silico, and In Vitro Approaches. *Foods*. 2023;12(19):3643.
12. Orlo E, Nerín C, Lavorgna M, Wrona M, Russo C, Stanzione M, et al. Antioxidant activity of coatings containing eugenol for flexible aluminium foils to preserve food shelf-life. *Food Packaging and Shelf Life*. 2023;39:101145.
13. Hasbullah ML, Nurdian Y, Abrori C. Potensi Ekstrak Etanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) sebagai Larvasidal Nyamuk Aedes. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 2019;5(1).
14. Andriani S, Sulisyanti E. Uji Stabilitas Fisik secara Organoleptis Pembuatan Sediaan Minyak Gosok dari Bahan Kelapa (*Cocos nucifera* L.), Serai (*Cymbopogon citratus* DC.) dan Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*). *Journal of Holistic and Health Sciences*. 2018;1(2):119–24.
15. das Chagas Pereira de Andrade F, Mendes AN. Computational analysis of eugenol inhibitory activity in lipoxygenase and cyclooxygenase pathways. *Sci Rep*. 2020;10:16204.
16. Andrei C, Zanfirescu A, Nițulescu GM, Olaru OT, Negreș S. Natural Active Ingredients and TRPV1 Modulation: Focus on Key Chemical Moieties Involved in Ligand–Target Interaction. *Plants*. 2023;12(2):339.
17. Abdou A, Ennaji H, Maaghloud FE, Azhary KE, Badou A, Elmakssoudi A, et al. In silico and in vivo anti-inflammatory effect of eugenol and acetyleugenol. *Scientific African*. 2024;24:e02205.
18. Purba NE, Suhendra L, Wartini NM. Pengaruh Suhu dan Lama Ekstraksi dengan cara Maserasi terhadap Karakteristik Pewarna dari Ekstrak Alga Merah (*Gracilaria* sp.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 2019;7(4):488.
19. Sayoga MH, Wartini NM, Suhendra L. Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Ekstraksi terhadap Karakteristik Ekstrak Pewarna Alami Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* R.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 2020;8(2):234.
20. Mamay M, Wardani D, Hakim F. Aktivitas Antioksidan Total pada Ekstrak Etanol Daun Bambu Surat (*Gigantochloa pseudoarundinaceae*). *Jurnal Kesehatan Perintis*. 2022;9(1):47–52.
21. Ibrahim I, Evama Y, Sylvia N. Ekstrak Minyak dari Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) dengan Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 2021;10(2):57.
22. Pramitha DAI, Suantari PA, Gmelina PD, Suradnyana IGM, Yuda PESK. Kualitas Minyak Oles yang Diproduksi dari Virgin Coconut Oil (VCO) dan Bunga Cengkeh dengan Variasi Suhu Pemanasan. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*. 2022;149–61.
23. Shah K, Mujwar S, Gupta JK, Shrivastava SK, Mishra P. Molecular Docking and In Silico Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *Assay and Drug Development Technologies*. 2019;17(6):285–91.
24. Mutiah R, Indrawijaya YYA, Dharma TJ, Damaiyanti J. In Silico Study on the Effect of Heliannuol A, B, C, D, E Compounds of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) on Dual PI3K/mTOR (5OQ4) Enzyme. *Majalah Obat Tradisional*. 2021;26(1):71.
25. Chaubah MAL, Bontes BW, Mulachelah NA. Molecular Docking of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Potentially Carcinogenic Molecules Through Binding with Aryl Hydrocarbon Receptor. *JSMARTech*. 2019;1(1):12–5.