

Studi Komparatif Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan n-Heksana Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan Analisis GC-MS

Junairiah¹, Haliza Amilu Sholihah², Edy Setiti Wida Utami³, Febri Dwi Irfansyah⁴

^{1,2,3,4}Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

Email: ¹junairiah@fst.unair.ac.id, ²haliza.amilu.olihah-2022@fst.unair.ac.id, ³edy-s-w-u@fst.unair.ac.id, ⁴febri.dwi.fansyah-2021@fst.unair.ac.id

Email Penulis Korespondensi: junairiah@fst.unair.ac.id

Info Artikel	Abstrak
Kata Kunci: Antioksidan Caesalpinia Sappan Metabolit Sekunder Senyawa Bioaktif	Radikal bebas dan stres oksidatif berkontribusi terhadap penyakit degeneratif seperti kanker, kardiovaskular, dan inflamasi, sehingga kebutuhan antioksidan alami terus meningkat. Kayu secang (<i>Caesalpinia sappan</i> L.) diketahui mengandung senyawa bioaktif, namun data komparatif profil fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan n-heksana masih terbatas. Penelitian ini bertujuan membandingkan metabolit sekunder, aktivitas antioksidan, dan kandidat senyawa bioaktif yang teridentifikasi secara tentatif dari ekstrak metanol dan n-heksana kayu secang. Kayu secang kering dimaserasi dengan metanol dan n-heksana, kemudian dianalisis melalui skrining fitokimia, uji DPPH, dan GC-MS. Ekstrak metanol mengandung terpenoid, tanin, flavonoid, dan alkaloid, sedangkan ekstrak n-heksana mengandung terpenoid, flavonoid, dan alkaloid. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (IC_{50} 23,1643 μ g/mL), sedangkan ekstrak n-heksana sangat lemah (IC_{50} 784,7517 μ g/mL). Analisis GC-MS mengidentifikasi senyawa bioaktif secara tentatif pada kedua ekstrak, dengan senyawa dominan pada ekstrak metanol meliputi turunan ester, fenolik, dan flavonoid, sedangkan pada ekstrak n-heksana didominasi oleh alkohol alifatik dan terpena. Penelitian ini menyajikan perbandingan langsung profil fitokimia dan aktivitas antioksidan dua pelarut, serta identifikasi senyawa secara tentatif dengan GC-MS, tanpa klaim penemuan senyawa baru. Dengan demikian, ekstrak metanol kayu secang berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami, sedangkan ekstrak n-heksana kurang potensial untuk tujuan tersebut.
	Abstract
Keywords: Antioxidant Caesalpinia Sappan Bioactive Compounds Secondary Metabolites	Free radicals and oxidative stress contribute to degenerative diseases such as cancer, cardiovascular disease, and inflammation, increasing the need for natural antioxidants. Sapan wood (<i>Caesalpinia sappan</i> L.) is known to contain bioactive compounds; however, comparative data on the phytochemical profile and antioxidant activity of its methanol and n-hexane extracts remain limited. This study aimed to compare secondary metabolites, antioxidant activity, and tentatively identified bioactive compounds in methanol and n-hexane extracts of sapan wood. Dried sapan wood was macerated with methanol and n-hexane, then analyzed through phytochemical screening, DPPH assay, and GC-MS. The methanol extract contained terpenoids, tannins, flavonoids, and alkaloids, whereas the n-hexane extract contained terpenoids, flavonoids, and alkaloids. The methanol extract exhibited very strong antioxidant activity (IC_{50} 23.1643 μ g/mL), while the n-hexane extract showed very weak activity (IC_{50} 784.7517 μ g/mL). GC-MS analysis tentatively identified bioactive compounds in both extracts, with dominant compounds in the methanol extract including ester, phenolic, and flavonoid derivatives, whereas the n-hexane extract was dominated by aliphatic alcohols and terpenes. This study presents a direct comparison of the phytochemical profiles and antioxidant activities of two solvents, along with tentative compound identification by GC-MS, without claiming the discovery of new compounds. Therefore, the methanol extract of sapan wood has potential to be developed as a natural antioxidant source, whereas the n-hexane extract is less potential for this purpose.

JuKSIT is licensed under a Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International License



1. PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti serangan jantung, kanker, katarak, dan menurunnya fungsi ginjal [1]. Radikal bebas yang mengambil elektron dari tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) sehingga timbul sel-sel yang mengalami mutasi [2]. Stres oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas diketahui ikut menimbulkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan inflamasi [3]. Oleh karena itu, pencarian sumber antioksidan alami yang efektif menjadi penting.

Indonesia merupakan salah satu negara megabiodiversitas di dunia karena memiliki kekayaan flora yang melimpah. Keanekaragaman hayati tersebar di berbagai ekosistem, mulai dari hutan hujan tropis dataran rendah sampai wilayah pesisir. Setiap daerah menyimpan ribuan spesies tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber bahan pangan, obat-obatan, pewarna alami, dan kosmetik [4]. Salah satu tumbuhan Indonesia yang memiliki nilai ekonomi dan farmakologis tinggi adalah *Caesalpinia sappan* L. atau kayu secang. Tanaman ini telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pewarna alami dan ramuan tradisional [5]. Kayu secang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti brazilin, brazilein, dan flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antiradang yang cukup tinggi [6]. Kandungan tersebut menjadikan tanaman kayu secang sebagai flora khas Indonesia yang memiliki potensi besar dalam bidang kesehatan dan industri [7]. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan menghambat proses oksidasi yang dapat menyebabkan stres oksidatif dalam tubuh [8]. Selain itu, kayu secang dimanfaatkan dan dikembangkan dalam produk-produk alami yang berkelanjutan [9].

Beberapa studi telah mengeksplorasi aktivitas antioksidan kayu secang dengan berbagai pendekatan. Purba et al. [10] melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit kayu secang memiliki aktivitas DPPH terkuat ($IC_{50} = 63,48 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan n-heksana, etil asetat, dan air, dengan korelasi tertinggi terhadap kandungan flavonoid total. Sarian et al. [11] menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat, metanol, dan air dari kayu teras secang memiliki IC_{50} yang sebanding dengan asam askorbat dan rutin. Kurniasari et al. [12] melaporkan bahwa ekstrak UAE dengan etanol 60% menghasilkan $IC_{50} < 50$ ppm. Studi isolasi senyawa juga telah mengidentifikasi alpinetin dan 3-deoksisapanon B dari ekstrak metanol dengan IC_{50} masing-masing $20,11 \mu\text{M}$ dan $15,28 \mu\text{M}$ [13]. Selain itu, analisis GC-MS pada ekstrak metanol kayu secang telah mengidentifikasi 33 konstituen bioaktif [14]. Studi antibakteri komparatif oleh Rajan et al. [15] membandingkan ekstrak metanol, kloroform, petroleum eter, dan air dari berbagai bagian tanaman, tetapi fokus pada aktivitas antibakteri, bukan antioksidan, dan tidak menggunakan n-heksana sebagai pelarut pembanding.

Perbandingan dengan studi terdahulu menunjukkan beberapa perbedaan dan kesamaan yang perlu dicatat. Dari segi rendemen, Sari et al. [16] melaporkan rendemen ekstrak metanol kayu secang sebesar 4,52% dan n-heksana 0,12%, sedangkan penelitian ini memperoleh rendemen 10% dan 3%. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh metode penguapan yang digunakan; penelitian ini menggunakan penguapan manual pada suhu ruang di lemari asam, yang dapat mengurangi kehilangan komponen volatil dibandingkan penguapan dengan pemanasan. Dari segi profil metabolit, Purba et al. [10] melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit kayu secang mengandung flavonoid dan tanin, konsisten dengan hasil skrining penelitian ini. Namun, Purba et al. [10] menggunakan kulit kayu, sedangkan penelitian ini menggunakan bagian kayu, sehingga perbedaan distribusi metabolit antar-organ dapat memengaruhi hasil. Dari segi metode DPPH, Purba et al. [10] melaporkan IC_{50} ekstrak metanol kulit kayu sebesar $63,48 \mu\text{g/mL}$, Sarian et al. [11] melaporkan IC_{50} yang sebanding dengan asam askorbat dan rutin, sedangkan Kurniasari et al. [12] melaporkan $IC_{50} < 50$ ppm untuk ekstrak etanol 60%. Penelitian ini memperoleh IC_{50} $23,1643 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol, yang berada dalam kisaran yang dilaporkan literatur, meskipun perbedaan bagian tanaman, pelarut, dan metode ekstraksi membatasi perbandingan langsung. Dari segi senyawa khas, Vij et al. [21] merangkum bahwa brazilin, brazilein, dan homoisoflavonoid merupakan senyawa khas *C. sappan* yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. Studi isolasi oleh Zhao et al. [13] berhasil mengidentifikasi alpinetin dan 3-deoksisapanon B dari ekstrak metanol dengan IC_{50} masing-masing $20,11 \mu\text{M}$ dan $15,28 \mu\text{M}$. Penelitian ini tidak melakukan isolasi, tetapi GC-MS mengidentifikasi brazilin secara tentatif pada ekstrak metanol, konsisten dengan literatur tersebut. Namun, karena tidak ada kuantifikasi brazilin atau pengujian senyawa murni, hubungan antara brazilin dan aktivitas antioksidan dalam penelitian ini hanya bersifat asosiatif. Dari segi identifikasi senyawa, Kumar et al. [14] melaporkan 33 konstituen bioaktif dari ekstrak metanol kayu secang menggunakan GC-MS, sedangkan penelitian ini mengidentifikasi sejumlah senyawa dominan, termasuk ester, fenolik, dan flavonoid pada ekstrak metanol, serta alkohol alifatik dan terpena pada ekstrak n-heksana. Perbedaan jumlah senyawa yang teridentifikasi dapat disebabkan oleh perbedaan kondisi GC-MS, kolom, dan kriteria SI/RSI yang digunakan.

Namun, terdapat beberapa celah yang belum terjawab. Pertama, studi yang secara langsung membandingkan ekstrak metanol dan n-heksana dari bagian kayu secang (bukan kulit) untuk aktivitas antioksidan DPPH dalam satu desain penelitian yang terkontrol masih terbatas. Purba et al. [10] menggunakan kulit kayu, sedangkan Sarian et al. [11]

tidak menyertakan n-heksana sebagai pelarut pembanding. Kedua, penelitian yang ada umumnya tidak mengintegrasikan skrining fitokimia kualitatif, kuantifikasi IC_{50} , dan identifikasi GC-MS dalam satu kerangka komparatif dua pelarut. Ketiga, data rendemen ekstraksi dan profil senyawa dari ekstrak n-heksana kayu secang masih sangat jarang dilaporkan, padahal informasi ini penting untuk memahami distribusi metabolit sekunder berdasarkan polaritas pelarut. Keempat, belum ada studi yang secara eksplisit mengaitkan perbedaan spektrum metabolit yang terekstrak dengan perbedaan aktivitas antioksidan yang kontras antara kedua pelarut, terutama ketika ekstrak n-heksana tidak mencapai IC_{50} pada rentang uji yang lazim.

Kebaruan penelitian ini terletak pada tiga kontribusi spesifik: (1) menyajikan perbandingan langsung dan terkontrol antara ekstrak metanol dan n-heksana dari bagian kayu secang dalam satu batch ekstraksi yang identik, sehingga perbedaan yang diamati dapat diatribusikan pada polaritas pelarut; (2) mengintegrasikan tiga lapis analisis—skrining fitokimia kualitatif, kuantifikasi aktivitas antioksidan DPPH, dan identifikasi senyawa dengan GC-MS—dalam satu kerangka komparatif pada sumber bahan dan kondisi ekstraksi yang sama; dan (3) memberikan bukti kuantitatif bahwa ekstrak n-heksana tidak mencapai IC_{50} pada rentang 6,25–200 $\mu\text{g/mL}$, yang mengimplikasikan bahwa fraksi non-polar kayu secang tidak menjanjikan sebagai sumber antioksidan, berbeda dari ekstrak metanol yang tergolong sangat kuat (IC_{50} 23,16 $\mu\text{g/mL}$). Dengan demikian, penelitian ini tidak sekadar menggabungkan metode yang sudah lazim, tetapi menjawab pertanyaan spesifik tentang sejauh mana polaritas pelarut menentukan perolehan senyawa antioksidan dari kayu secang, yang memiliki implikasi praktis untuk pemilihan pelarut dalam pengembangan produk antioksidan alami.

Tujuan dari penelitian ini adalah: (1) mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana kayu secang (*C. sappan* L.); (2) mengetahui persentase nilai inhibisi (%) dan nilai IC_{50} dari ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana kayu secang (*C. sappan* L.); (3) mengidentifikasi secara tentatif kandidat senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak metanol dan n-heksana kayu secang (*C. sappan* L.) berdasarkan kemiripan spektrum massa dengan pustaka NIST 2017, tanpa menggunakan standar autentik.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Bahan

Kayu secang kering (*C. sappan* L.) diperoleh dari Pasar Pabean, Surabaya, Indonesia (7°14'05.43" LS, 112°44'26.88" BT) pada 13 Januari 2026. Bahan tanaman diidentifikasi di unit layanan bersertifikat (nomor spesimen voucher 01/02.CS/2026). Kayu dicuci bersih di bawah air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dikeringkan pada suhu ruang jauh dari sinar matahari langsung. Bahan kering digiling menjadi serbuk halus menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh untuk memastikan ukuran partikel yang seragam.

2.2. Ekstraksi

Serbuk kayu secang (100 g) diekstraksi secara terpisah dengan metode maserasi menggunakan metanol ($\geq 99,8\%$, Fulltime, Anhui, China) dan n-heksana ($\geq 98,5\%$, Fulltime, Anhui, China) dalam wadah kaca. Masing-masing 100 g serbuk dimaserasi dengan 500 mL pelarut sehingga rasio bahan:pelarut per siklus adalah 1:5 (b/v). Setiap siklus maserasi dilakukan selama 3 hari pada suhu ruang dengan homogenisasi manual setiap 24 jam. Setelah 3 hari, campuran disaring dan residu dimaserasi ulang dengan 500 mL pelarut baru. Siklus maserasi–filtrasi ini diulang tiga kali, sehingga total waktu maserasi adalah 9 hari dan total pelarut per batch adalah 1500 mL (rasio total bahan:pelarut 1:15 b/v). Filtrat dari ketiga siklus digabungkan, kemudian diuapkan pada suhu ruang di dalam lemari asam hingga mencapai berat konstan, menghasilkan ekstrak metanol dan n-heksana yang kental. Ekstraksi dilakukan dalam satu batch independen untuk masing-masing pelarut. Desain eksperimental penelitian ini adalah studi komparatif dua perlakuan pelarut (metanol dan n-heksana) tanpa replikasi ekstraksi independen. Dengan demikian, unit replikasi biologis/independen ekstraksi tidak tersedia, dan penelitian ini tidak dimaksudkan untuk menilai variabilitas antar-batch maupun variasi biologis. Rendemen ekstraksi dihitung menggunakan Persamaan (1):

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk kering (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3. Skrining fitokimia

Uji fitokimia kualitatif untuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid dilakukan sesuai prosedur standar [9]. Alkaloid dideteksi menggunakan pereaksi Wagner, Dragendorff, dan Mayer: terbentuknya endapan cokelat, jingga, atau kuning menunjukkan hasil positif. Flavonoid diidentifikasi dengan uji reduksi HCl–Mg: 1 mL ekstrak diberi 0,5 mL HCl pekat dan beberapa potong pita magnesium; warna merah atau kuning menunjukkan adanya flavonoid. Tanin diuji dengan menambahkan larutan FeCl_3 5%; endapan berwarna hijau kehitaman atau biru menunjukkan adanya tanin. Saponin dinilai dengan uji busa: 1 mL ekstrak dikocok kuat dengan 5 mL akuades;

terbentuknya busa ≥ 1 cm menunjukkan adanya saponin. Terpenoid dan steroid diidentifikasi dengan reaksi Liebermann–Burchard: 2 mL ekstrak diberi 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 2 mL H_2SO_4 pekat; cincin berwarna cokelat atau violet menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan cincin berwarna biru kehijauan menunjukkan adanya steroid. Hasil dicatat sebagai positif (+) atau negatif (-).

2.4. GC-MS

Ekstrak metanol dan n-heksana dianalisis menggunakan sistem GC-MS (Agilent 7890B dengan 5977B MSD, USA) yang dilengkapi kolom kapiler HP-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm ketebalan film). Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju alir 1 mL/menit. Program suhu oven adalah: awal 50°C ditahan selama 2 menit, kemudian dinaikkan hingga 280°C dengan laju 10°C/menit, dengan penahanan akhir selama 10 menit. Suhu injektor 250°C, dan 1 μL setiap ekstrak diinjeksikan dalam mode *splitless*. Spektrometer massa dioperasikan dalam mode *electron impact* pada 70 eV pada rentang m/z 40–600. Senyawa diidentifikasi secara tentatif dengan membandingkan spektrum massa terhadap pustaka NIST 2017. Nilai *Similarity Index* (SI) dan *Reverse Similarity Index* (RSI) diperoleh pada skala 0–1000. Senyawa yang dilaporkan adalah senyawa dengan SI dan RSI ≥ 800 .

2.5. Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dievaluasi menggunakan uji penangkapan radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, HiMedia, Mumbai, India). Larutan stok DPPH (1000 $\mu\text{g/mL}$) dibuat dalam metanol dan diencerkan hingga konsentrasi kerja 50 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak metanol dan n-heksana dilarutkan dalam pelarut masing-masing untuk memperoleh larutan stok 1000 ppm, yang kemudian diencerkan secara serial menjadi 12 konsentrasi: 6,25; 10; 12,5; 15; 25; 35; 50; 75; 100; 125; 150; dan 200 ppm. Dalam pelat 96-sumur, 200 μL setiap konsentrasi ekstrak dicampur dengan 100 μL larutan DPPH (volume akhir 300 μL per sumur). Untuk setiap konsentrasi ekstrak, blanko sampel disiapkan dengan mencampur 200 μL ekstrak dengan 100 μL metanol (tanpa DPPH), dan absorbansinya diukur pada 517 nm. Nilai absorbansi blanko ini dikurangkan dari absorbansi sampel (ekstrak + DPPH) sebelum perhitungan inhibisi. Silymarin ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) digunakan sebagai kontrol positif, dan campuran DPPH–metanol tanpa ekstrak digunakan sebagai kontrol negatif. Setelah inkubasi pada suhu ruang dalam kondisi gelap selama 60 menit, absorbansi diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Multiskan GO, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Persentase inhibisi dihitung menggunakan Persamaan (2). Uji DPPH dilakukan tiga kali ulangan teknis, yaitu pengukuran absorbansi dari sumur yang sama, bukan ulangan independen ekstraksi. Oleh karena itu, data yang dilaporkan merupakan rata-rata $\pm$ SD dari ulangan teknis, dan tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan variabilitas antar-batch ekstraksi.

$$\text{Inhibisi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi blanko}}{\text{Absorbansi kontrol}}\right) \times 100\% \quad (2)$$

2.6. Analisis Data

Semua uji DPPH dilakukan tiga kali ulangan teknis (pengukuran absorbansi), dan hasil absorbansi dinyatakan sebagai rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Ulangan ini bukan ulangan biologis/independen ekstraksi, sehingga inferensi statistik mengenai perbedaan antar-perlakuan pelarut perlu dilakukan dengan hati-hati dan tidak dapat digeneralisasi ke variabilitas antar-batch. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan regresi linear terhadap seluruh titik data, dan hasilnya dilaporkan pada Tabel 2b. Hasil skrining fitokimia diinterpretasikan secara kualitatif. Semua uji DPPH dilakukan tiga kali ulangan teknis, dan hasil absorbansi dinyatakan sebagai rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Ulangan ini merupakan ulangan teknis (pengukuran absorbansi), bukan ulangan biologis/independen ekstraksi, sehingga inferensi statistik mengenai perbedaan antar-perlakuan pelarut perlu dilakukan dengan hati-hati dan tidak dapat digeneralisasi ke variabilitas antar-batch. Nilai IC_{50} (konsentrasi yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal DPPH) dihitung dengan regresi linear menggunakan Microsoft Excel, dengan x menyatakan konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/mL}$) dan y menyatakan persentase inhibisi. Hasil skrining fitokimia diinterpretasikan secara kualitatif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Rendemen Ekstraksi dan Profil Fitokimia

Maserasi 100 g serbuk kayu secang kering dengan metanol menghasilkan 10 g ekstrak kental berwarna merah bata (rendemen 10%), sedangkan ekstraksi dengan n-heksana menghasilkan 3 g ekstrak berminyak berwarna kuning pucat (rendemen 3%). Perbandingan dengan studi terdahulu menunjukkan bahwa rendemen metanol dalam penelitian ini lebih tinggi daripada yang dilaporkan Sari et al. [16], yaitu 4,52% untuk metanol dan 0,12% untuk n-heksana. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh metode penguapan; penelitian ini menggunakan penguapan manual pada suhu ruang di lemari asam, yang dapat mengurangi kehilangan komponen volatil dibandingkan penguapan dengan

pemanasan. Meskipun demikian, pola yang sama tetap teramati: rendemen metanol lebih tinggi daripada n-heksana, menegaskan dominasi metabolit sekunder polar hingga semi-polar pada kayu secang [16].

Skrining fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung terpenoid, tanin, flavonoid, dan alkaloid, sedangkan ekstrak n-heksana mengandung terpenoid, flavonoid, dan alkaloid, tetapi tidak mengandung tanin (Tabel 1). Hasil ini memperkuat temuan Purba et al. [10] yang melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit kayu secang mengandung flavonoid dan tanin. Kehadiran tanin hanya pada ekstrak metanol konsisten dengan prinsip polaritas: tanin adalah senyawa fenolik sangat polar dengan banyak gugus hidroksil, sehingga lebih mudah terpartisi ke dalam metanol [18]. Tidak adanya saponin pada kedua ekstrak sejalan dengan laporan bahwa saponin tidak melimpah pada kayu secang [19,20]. Hasil positif alkaloid hanya dengan Mayer pada ekstrak n-heksana dapat mencerminkan konsentrasi rendah atau ko-ekstraksi sebagian basa alkaloid semi-polar, sedangkan Dragendorff memberikan hasil negatif [20]. Secara keseluruhan, data fitokimia memperluas temuan sebelumnya dengan menunjukkan bahwa metanol mengekstrak spektrum metabolit yang lebih luas, terutama tanin, yang tidak diperoleh dengan n-heksana.

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak metanol dan n-heksana kayu secang

Metabolit sekunder	Ekstrak metanol	Ekstrak n-heksana
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Terpenoid	+	+
Steroid	-	-
Saponin	-	-
Tanin	+	-

Keterangan: (+): terdeteksi; (-): tidak terdeteksi

3.2 Aktivitas Antioksidan

Uji DPPH mengukur kemampuan ekstrak menyumbangkan atom hidrogen atau elektron kepada radikal stabil DPPH. Ekstrak metanol menunjukkan aktivitas penangkapan radikal yang sangat kuat dengan $IC_{50} = 23,1643 \mu\text{g/mL}$ (Tabel 2b), lebih rendah daripada kontrol silymarin ($IC_{50} = 36,5290 \mu\text{g/mL}$). Nilai ini sebanding atau lebih baik dibandingkan beberapa studi terdahulu: Purba et al. [10] melaporkan $IC_{50} 63,48 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol kulit kayu secang; Sani et al. [24] melaporkan $38,24 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol kulit kayu manis; dan Rossa et al. [25] melaporkan $94,25 \mu\text{g/mL}$ untuk *Cotylelobium lanceolatum*. Kurniasari et al. [12] melaporkan $IC_{50} < 50 \text{ ppm}$ untuk ekstrak etanol 60%. Dengan demikian, hasil penelitian ini memperkuat pola umum bahwa pelarut polar lebih efektif mengekstrak senyawa antioksidan dari kayu secang, meskipun perbedaan bagian tanaman, pelarut, dan metode ekstraksi membatasi perbandingan langsung.

Sebaliknya, ekstrak n-heksana tidak menunjukkan hubungan dose-response yang jelas dan tidak mencapai 50% inhibisi pada konsentrasi tertinggi yang diuji ($200 \mu\text{g/mL}$). Nilai IC_{50} sebesar $784,7517 \mu\text{g/mL}$ diperoleh melalui ekstrapolasi regresi jauh di luar rentang eksperimental, sehingga nilai tersebut tidak dapat diperlakukan sebagai IC_{50} terukur dan tidak digunakan untuk menarik kesimpulan. Ekstrak n-heksana dilaporkan sebagai tidak aktif pada rentang uji ($IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$).

Aspek validasi. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan regresi linear terhadap seluruh titik konsentrasi. Pendekatan ini dipilih karena sederhana dan telah digunakan secara luas dalam uji DPPH. Namun, nilai R^2 ekstrak metanol (0,8073) relatif rendah dibandingkan silymarin (0,9853), dan ekstrak n-heksana tidak menunjukkan pola dose-response yang jelas. Oleh karena itu, IC_{50} metanol dalam penelitian ini perlu dipandang sebagai estimasi awal, bukan nilai definitif, dan IC_{50} n-heksana tidak dilaporkan sebagai nilai terukur. Interval kepercayaan IC_{50} tidak dihitung, sehingga ketidakpastian estimasi tidak dapat dinilai. Keterbatasan ini tidak mengubah arah temuan bahwa ekstrak metanol jauh lebih aktif daripada n-heksana, tetapi membatasi kekuatan inferensi kuantitatif.

Tabel 2. Persentase inhibisi dan nilai IC_{50} ekstrak kayu secang serta kontrol silymarin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Metanol		n-Heksana		Silymarin	
	Rerata $\pm$ SD	% inhibisi	Rerata $\pm$ SD	% inhibisi	Rerata $\pm$ SD	% inhibisi
6.25	0.4231 ± 0.0104	30.08	0.5785 ± 0.0110	4.38	0.3738 ± 0.0048	38.11
10	0.3699 ± 0.0174	38.86	0.5752 ± 0.0287	4.93	0.3509 ± 0.0016	41.90
12.5	0.2466 ± 0.0079	59.24	0.5956 ± 0.0628	1.55	0.3507 ± 0.0064	41.94
15	0.1335 ± 0.0704	77.94	0.5686 ± 0.0481	6.02	0.3164 ± 0.0192	47.62

25	0.1271 ± 0.0492	78.99	0.5232 ± 0.0096	13.52	0.2947 ± 0.0040	51.20
35	0.0925 ± 0.0050	84.71	0.4826 ± 0.0280	20.24	0.2857 ± 0.0030	52.70
50	0.1077 ± 0.0357	82.20	0.5786 ± 0.0076	4.37	0.2565 ± 0.0015	57.53
75	0.0922 ± 0.0189	84.77	0.5998 ± 0.0412	0.86	0.2228 ± 0.0330	63.11
100	0.0847 ± 0.0135	86.00	0.5579 ± 0.0691	7.79	0.1555 ± 0.0031	74.26
125	0.0773 ± 0.0167	87.23	0.5509 ± 0.0451	8.94	0.1236 ± 0.0046	79.53
150	0.0655 ± 0.0021	89.17	0.5447 ± 0.1005	9.98	0.0961 ± 0.0044	84.09
200	0.0603 ± 0.0026	90.04	0.5014 ± 0.1766	17.13	0.0218 ± 0.0105	96.39

Keterangan: Nilai merupakan rata-rata ± SD dari pengukuran tiga kali ulangan teknis absorbansi pada 517 nm. % Inhibisi dihitung dari rerata absorbansi terhadap kontrol DPPH.

Tabel 3. Persamaan regresi, R², dan IC₅₀ ekstrak metanol, n-heksana, dan silymarin

Sampel	Persamaan regresi	R ²	IC ₅₀ (µg/mL)	Klasifikasi
Metanol	y = 0.2958x + 43.148	0.8073	23.1643	Sangat kuat
n-Heksana	y = 0.0604x + 2.601	0.8737	784.7517	Sangat lemah
Silymarin	y = 0.3051x + 38.855	0.9853	36.5290	Sangat kuat

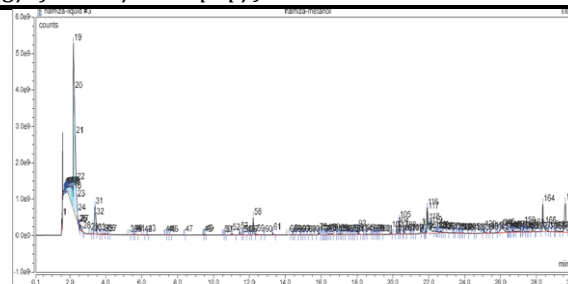
Keterangan: Sangat kuat IC₅₀ < 50 µg/mL; kuat (50–100); sedang (100–150); lemah (150–200); sangat lemah (> 200 µg/mL).

3.3 Senyawa Bioaktif yang Diidentifikasi dengan GC-MS

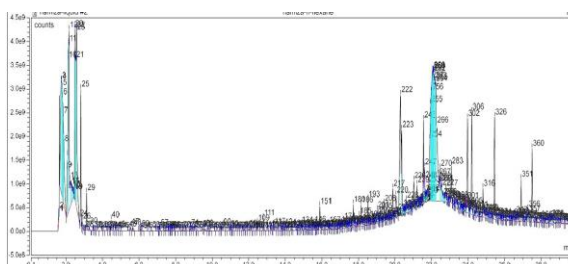
Kromatogram GC-MS dari ekstrak metanol dan n-heksana disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2. Analisis ekstrak metanol menunjukkan senyawa paling melimpah adalah glycidyl (Z)-9-heptadecenoate (8,22% area), diikuti oleh brazilin (7,14%) dan vitexin (6,28%) (Tabel 3). Ekstrak n-heksana didominasi oleh 1-heptatriacotanol (9,89%), D-limonene (7,52%), dan β-phellandrene (7,09%) (Tabel 4). Seluruh senyawa tersebut diidentifikasi secara tentatif berdasarkan kemiripan spektrum massa dengan pustaka NIST 2017 (SI dan RSI ≥800), tanpa konfirmasi menggunakan standar autentik. Oleh karena itu, senyawa-senyawa ini dilaporkan sebagai kandidat senyawa, bukan sebagai senyawa yang teridentifikasi secara definitif.

Identifikasi brazilin dalam ekstrak metanol menarik karena brazilin merupakan senyawa khas kayu secang. Brazilin (homoisoflavonoid) memiliki banyak gugus hidroksil yang secara teori dapat berfungsi sebagai penyumbang elektron untuk radikal bebas [17,20]. Keberadaannya (7,14% area) konsisten dengan aktivitas antioksidan kuat yang diamati, tetapi penelitian ini tidak melakukan kuantifikasi brazilin, isolasi senyawa, pengujian senyawa murni, atau analisis korelasi. Oleh karena itu, hubungan antara brazilin dan aktivitas antioksidan hanya bersifat asosiatif, bukan kausal. Vitexin, suatu C-glikosilflavon, juga dapat berkontribusi pada penangkapan radikal berbasis fenolik, namun kontribusinya tidak diuji secara terpisah. Sebaliknya, ekstrak n-heksana tidak mengandung brazilin atau senyawa fenolik lainnya; konstituen utamanya adalah alkohol alifatik (1-heptatriacotanol), terpena siklik (D-limonene, β-phellandrene), dan triterpenoid (squalene). Meskipun beberapa senyawa ini telah dikaitkan dengan aktivitas antioksidan pada uji tertentu, aktivitasnya umumnya lemah dibandingkan sistem fenolik. Data ini hanya menunjukkan konsistensi deskriptif antara profil senyawa dan aktivitas antioksidan, bukan bukti kontribusi kuantitatif masing-masing senyawa.

Tidak adanya tanin pada profil GC-MS n-heksana (mengonfirmasi hasil uji fitokimia negatif) dan kelimpahan hidrokarbon rantai panjang serta terpena memperkuat prinsip bahwa pelarut non-polar mengisolasi lilin kutikula dan minyak volatil, bukan antioksidan fenolik polar. Glycidyl ester yang ditemukan dalam ekstrak metanol, meskipun bukan antioksidan klasik, mungkin berkontribusi terhadap bioaktivitas keseluruhan melalui sinergisme atau efek interaksi membran [21]. Namun, klaim sinergisme ini tidak diuji secara langsung dalam penelitian ini. Secara keseluruhan, data GC-MS mendukung secara deskriptif skrining fitokimia dan memberikan bukti tingkat molekuler mengapa metanol lebih unggul daripada n-heksana.



Gambar 1. Kromatogram GC-MS Ekstrak Metanol Kayu Secang (*C. sappan* L.)



Gambar 2. Kromatogram GC-MS Ekstrak n-Heksana Kayu Secang (*C. sappan* L.)

Tabel 3. Kandidat senyawa yang teridentifikasi secara tentatif pada ekstrak metanol kayu secang

Waktu Retensi (menit)	Senyawa	Area (%)	SI	RSI	Golongan Senyawa	Bioaktivitas
24.181	Glycidyl (Z)-9-heptadecenoate	8.22	872	894	Ester glisidil	Antibakteri [21]
29.605	Brazilin	7.14	862	884	Fenolik	Antioksidan [17]
27.782	Vitexin	6.28	849	855	Flavonoid	Antikanker [22]
14.460	Benzaldehyde, 2,4-dihydroxy-	6.25	846	891	Aldehida fenolik	Antimikroba [23]
14.198	Dodecanoic acid, 3-hydroxy-	5.10	883	886	Asam lemak hidroksi	Antiinflamasi [24]
14.409	4-Vinylbenzene-1,2-diol	2.94	805	897	Senyawa fenolik	Antioksidan [25]

Keterangan: Waktu retensi = waktu elusi (menit); Area (%) = kelimpahan relatif; SI = kemiripan spektrum sampel terhadap pustaka NIST 2017 (0–1000); RSI = kemiripan spektrum pustaka terhadap sampel (0–1000). Identifikasi bersifat tentatif berdasarkan SI dan RSI ≥ 800 , tanpa standar autentik.

Tabel 4. Kandidat senyawa yang teridentifikasi secara tentatif pada ekstrak n-heksana kayu secang

Waktu Retensi (menit)	Senyawa	Area (%)	SI	RSI	Golongan Senyawa	Bioaktivitas
22.779	1-Heptatriacotanol	9.89	881	884	Alkohol lemak	Antioksidan [26]
8.440	D-Limonene	7.52	896	906	Monoterpena	Antioksidan [27]
9.804	β -Phellandrene	7.09	802	830	Monoterpena	Antioksidan [28]
27.500	Squalene	4.81	909	917	Triterpenoid	Antifungi [29]
15.419	Caryophyllene oxide	3.45	835	879	Seskuiterpenoid	Antikanker [30]
22.779	1-Heptatriacotanol	9.89	881	884	Alkohol lemak	Antioksidan [26]

Keterangan: Waktu retensi = waktu elusi (menit); Area (%) = kelimpahan relatif; SI = kemiripan spektrum sampel terhadap pustaka NIST 2017 (0–1000); RSI = kemiripan spektrum pustaka terhadap sampel (0–1000). Identifikasi bersifat tentatif berdasarkan SI dan RSI ≥ 800 , tanpa standar autentik.

3.4 Validasi, Keterbatasan, dan Arah Penelitian Lanjutan

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, hanya satu batch ekstraksi independen yang dilakukan untuk masing-masing pelarut, sehingga variabilitas antar-batch tidak dapat dinilai. Ulangan tiga kali pada uji DPPH merupakan ulangan teknis, bukan ulangan independen ekstraksi. Kedua, IC₅₀ dihitung menggunakan regresi linear tanpa

pengujian kecocokan model dan tanpa interval kepercayaan; R^2 metanol relatif rendah dan n-heksana tidak menunjukkan dose-response yang jelas. Ketiga, hanya satu sumber geografis kayu secang yang digunakan; provenans yang berbeda dapat menunjukkan profil fitokimia yang bervariasi. Keempat, uji DPPH adalah uji kimia in vitro yang tidak mencerminkan bioavailabilitas atau konversi metabolik in vivo. Kelima, identifikasi GC-MS bersifat tentatif tanpa standar autentik. Oleh karena itu, temuan ini perlu dikonfirmasi melalui penelitian lanjutan dengan replikasi ekstraksi independen, pengujian kecocokan model dan interval kepercayaan IC_{50} , serta standar autentik untuk konfirmasi senyawa

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan n-heksana kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) menunjukkan perbedaan dalam perolehan senyawa antioksidan, yang berkaitan dengan polaritas pelarut. Ekstrak metanol (polar) memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang sangat kuat ($IC_{50} = 23,1643 \mu\text{g/mL}$), sedangkan ekstrak n-heksana (non-polar) tidak mencapai 50% inhibisi pada rentang konsentrasi 6,25–200 $\mu\text{g/mL}$, sehingga IC_{50} -nya dilaporkan sebagai $> 200 \mu\text{g/mL}$ dan tidak dapat diklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} terukur. Skrining fitokimia dan analisis GC-MS menunjukkan bahwa metanol lebih efisien mengekstrak senyawa fenolik, termasuk brazilin yang teridentifikasi secara tentatif, sedangkan n-heksana terutama memperoleh terpena, alkohol alifatik, dan lilin. Temuan ini memberikan dasar ilmiah untuk memilih metanol sebagai pelarut yang lebih sesuai untuk menyiapkan fraksi kaya antioksidan dari kayu secang. Namun, karena penelitian ini hanya menggunakan satu batch ekstraksi per pelarut, generalisasi terhadap variabilitas antar-batch perlu dilakukan dengan hati-hati, dan hubungan antara polaritas pelarut dengan perolehan senyawa antioksidan perlu dikonfirmasi melalui penelitian lanjutan dengan replikasi ekstraksi independen.

PERNYATAAN PENGGUNAAN KECERDASAN BUATAN (ARTIFICIAL INTELLIGENCE)

Penulis menyatakan bahwa tidak menggunakan kecerdasan buatan (AI) atau generative AI dalam penyusunan, penulisan, analisis, maupun penyuntingan naskah ini. Seluruh gagasan, data, analisis, interpretasi, dan isi naskah merupakan hasil kerja dan tanggung jawab penulis.

REFERENCES

- [1] K. Jomova, R. Raptova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel, E. Nepovimova, K. Kuca, and M. Valko, "Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging," *Archives of Toxicology*, vol. 97, no. 10, pp. 3053–3125, 2023.
- [2] Fakriah, E. Kurniasih, Adriana, and Rusydi, "Sosialisasi bahaya radikal bebas dan fungsi antioksidan alami bagi kesehatan," *Jurnal Vokasi*, vol. 3, no. 1, pp. 25–30, 2019.
- [3] N. S. Sonia, C. Mini, and P. R. Geethalekshmi, "Vegetable peels as natural antioxidants for processed foods—A review," *Agricultural Reviews*, vol. 37, no. 1, pp. 35–41, 2016.
- [4] K. Hadi, C. Setiami, W. Azizah, W. Hidayah, and Y. Fatima, "Kajian aktivitas antioksidan dari kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.)," *Photon: Journal of Natural Sciences and Technology*, vol. 13, no. 2, pp. 48–59, 2023.
- [5] U. N. Faizah, N. N. M. Maula, R. A. Mustika, and S. Wahyuni, "Potensi senyawa antioksidan yang terkandung dalam kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) untuk perawatan kulit alami," *Symbiotic: Journal of Biological Education and Science*, vol. 4, no. 1, pp. 41–49, 2023.
- [6] M. Z. A. Asyraf, D. Limanan, E. Yulianti, and F. Ferdinal, "Uji kapasitas antioksidan pada ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan metode DPPH, FRAP," *Jurnal Sehat Indonesia (JUSINDO)*, vol. 7, no. 1, pp. 172–180, 2024.
- [7] U. Nurullita and E. Irawati, "Perbandingan aktivitas antioksidan bahan alami dan bahan sintetis (studi pada kayu secang dan vitamin C)," *Jurnal MIPA*, vol. 11, no. 2, pp. 51–55, 2022.
- [8] N. Ekawati, W. Sasikirana, E. Annisaa, and I. R. E. Dini, "Uji aktivitas antioksidan serta formulasi tablet hisap ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan bahan penghancur sodium starch glycolate," *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Special Issue, pp. 32–36, 2023.
- [9] M. Nafisah, Tukiran, Suyanto, and H. Nurul, "Uji skrining fitokimia pada ekstrak heksan, kloroform, dan metanol dari tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta*)," in *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, Surabaya, 2014, pp. 279–286.
- [10] R. Purba, A. S. Daulay, and Y. P. Rahayu, "Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak kulit kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan berbagai pelarut," *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, vol. 12, no. 1, pp. 45–52, 2023.

- [11] E. Sarian, Q. U. Ahmed, S. M. So'ad, A. M. S. A. Alhassan, and S. Murugaiyah, "Antioxidant and antiglycation activities of the extracts of *Caesalpinia sappan* L. wood," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 7, no. 22, pp. 1635–1641, 2003.
- [12] L. Kurniasari, D. Hartanti, and R. W. Sari, "Optimasi ultrasound-assisted extraction (UAE) kulit kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan aktivitas antioksidannya," *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, vol. 35, no. 1, pp. 78–87, 2024.
- [13] Y. Zhao, X. Li, and H. Zhang, "Isolation of alpinetin and 3-deoxysappanone B from *Caesalpinia sappan* and their antioxidant activities," *Natural Product Research*, vol. 38, no. 5, pp. 1123–1130, 2024.
- [14] S. Kumar, A. K. Singh, and P. K. Sharma, "GC-MS analysis of bioactive constituents from methanol extract of *Caesalpinia sappan* L.," *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 12, no. 3, pp. 210–215, 2023.
- [15] R. Rajan, M. S. Kumar, and P. S. Rao, "Comparative antibacterial activity of various extracts of *Caesalpinia sappan* L.," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 6, no. 4, pp. 1567–1572, 2015.
- [16] L. P. Sari, A. Mulyati, and I. Permatasari, "Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.)," *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, vol. 10, no. 1, pp. 12–19, 2023.
- [17] F.-Z. Chen, Q. Zhao, J. Yan, X.-Q. Guo, Q. Song, and Q. Yao, "Antioxidant activity and antioxidant mechanism of brazilin and neoprotosappanin from *Caesalpinia sappan* lignum," *Asian Journal of Chemistry*, vol. 29, no. 8, pp. 1757–1760, 2017.
- [18] F. Fathurrahman, R. Ridwan, and S. Suryani, "Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari kulit batang sengon (*Paraserianthes falcatoria*)," *Jurnal Kimia Riset*, vol. 3, no. 1, pp. 12–18, 2018.
- [19] I. Gunawan, *Fitokimia: Teori dan Implementasi*. Denpasar: Udayana University Press, 2018.
- [20] D. N. S. Tarakanita, "Potensi keberadaan fitokimia pada tumbuhan (kajian skrining fitokimia)," *Jurnal Sylva Scientiae*, vol. 2, no. 4, pp. 645–654, 2019.
- [21] T. Vij, S. Rawat, and A. Kumar, "A comprehensive review on bioactive compounds found in *Caesalpinia sappan* L. and their pharmacological activities," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 315, p. 116128, 2023.
- [22] M. He, J. W. Min, W. L. Kong, X. H. He, J. X. Li, and B. W. Peng, "A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin," *Fitoterapia*, vol. 115, pp. 74–85, 2016.
- [23] M. Daglia, "Polyphenols as antimicrobial agents," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 23, no. 2, pp. 174–181, 2012.
- [24] B. K. Yoon, J. A. Jackman, E. R. Valle-González, and N. J. Cho, "Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 4, p. 1114, 2018.
- [25] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 20, no. 7, pp. 933–956, 1996.
- [26] R. Wardhani, A. Pardede, F. Rizkiana, and E. Prasiska, "Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun dan kulit batang bangkal (*Nauclea subdita*) menggunakan gas chromatography-mass spectrometry," *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, vol. 8, no. 1, pp. 95–102, 2025.
- [27] H. Wang, Q. Lu, X. Chen, Y. Qian, B. Qian, and H. Tan, "Global trends and biological activity hotspots of d-limonene in essential oils: A 30-year bibliometric study," *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, vol. 398, no. 5, pp. 5491–5507, 2025.
- [28] N. Mohammadi, P. Rajaei, M. Moradalidzadeh, and M. S. Amiri, "Essential oil composition and antioxidant activity of *Levisticum officinale* Koch. at various phenological stages," *Journal of Medicinal Plants*, vol. 16, no. 61, pp. 45–55, 2017.
- [29] M. P. Bhat, M. Rudrappa, A. Hugar, P. V. Gunagambhire, R. S. Kumar, S. Nayaka, and K. Perumal, "In-vitro investigation on the biological activities of squalene derived from the soil fungus *Talaromyces pinophilus*," *Heliyon*, vol. 9, no. 11, p. e21834, 2023.
- [30] K. Fidy, A. Fiedorowicz, L. Strzadala, and A. Szumny, " β -Caryophyllene and β -caryophyllene oxide—Natural compounds of anticancer and analgesic properties," *Cancer Medicine*, vol. 5, no. 10, pp. 3007–3017, 2016.