

REVIEW: ISOLASI SENYAWA TURUNAN BETALAIN DAN AKTIVITAS FARMAKOLOGI SENYAWA BETANIN DARI TANAMAN *Rivina humilis* L.

Sinaga, F.¹, R. O. Husein¹, M. H. Ishmatullah¹, R. A. Nuralisa¹, N. Amalia¹, B. A. N. Prasetyo¹, A. Zuhrotun²

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

franatalia.sinaga@gmail.com

diserahkan 13/04/2021, diterima 25/07/2021

ABSTRAK

Bahan herbal telah mengalami peningkatan dalam pemanfaatannya dalam pengobatan. Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan dalam pengobatan adalah *Rivina humilis* L. Betanin merupakan senyawa yang terkandung dalam buah dan daun tanaman *Rivina humilis* L. yang merupakan pigmen warna dasar merah hingga merah tua. Senyawa ini memiliki aktivitas utama sebagai antioksidan dan memiliki aktivitas sebagai penghambat toksisitas hati yang telah teruji secara praklinik. Aktivitas yang telah teruji klinik adalah sebagai alternatif terapi suplemen dalam mengatasi stress oksidasi, inflamasi, menurunkan kadar gula darah dan penyakit yang berhubungan tentang penuaan. Metode yang digunakan dalam tinjauan artikel ini adalah dengan studi literatur pada mesin pencarian serta laman jurnal nasional maupun internasional lainnya dengan kata kunci “betanin”, “betanin isolation from *Rivina humilis* fruit” “getih-getihan”, “betanin identification”, dan “pharmacology activity of betanin”. Tujuan dari penulisan review artikel ini adalah untuk menguraikan alur isolasi senyawa turunan betalain dari tumbuhan *Rivina humilis* L. sampai dengan purifikasi betacyanin dan betaxanthin sebagai turunan betalain untuk digunakan dalam uji bioaktivitas.

Kata Kunci: Betanin, *Rivina humilis* L., Isolasi, Aktivitas Klinik, Aktivitas Praklinik

ABSTRACT

Herbal have increased in their use in medication. One of the potential plants in medication is *Rivina humilis* L. *Rivina humilis* L. has betanin in their fruits and leaves as red pigment. Betanin has antioxidant and liver toxicity inhibitor effects that pre-clinically tested. Betanin acts as supplement therapy for oxidative stress, inflammation, lowering blood sugar level and other diseases associated with aging, clinically. Method used in this review is literature studies in search engine and national or international journal with keywords “betanin”, “betanin isolation from *Rivina humilis* fruit” “getih-getihan”, “betanin identification”, and “pharmacology activity of betanin”. The aim of this review is to describe betalain derivatives isolation from *Rivina humilis* L. and purification of betacyanin and betaxanthin as betalain derivatives for bioactivities study.

Keywords: Betanin, *Rivina humilis* L., isolation, Clinical activities, Preclinical activities

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan-bahan herbal dalam bidang pengobatan cukup meningkat beberapa waktu terakhir ini. Pengobatan tradisional menjadi salah satu pilihan dalam bidang kesehatan. Di Indonesia, perkembangan pengobatan tradisional ini dapat dilihat dengan disusunnya Kebijakan Obat Tradisional Nasional pada tahun 2007 (Siswanto, 2017). Menurut data, Indonesia memiliki sekitar 20.000 spesies tumbuhan. Dari 20.000 spesies tersebut, sebesar 40% merupakan tumbuhan asli Indonesia. Oleh karena itu, pengobatan tradisional menggunakan bahan-bahan herbal sangat berpotensi apabila dikembangkan di Indonesia (Kusmana dan Hikmat, 2015).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan herbal untuk pengobatan adalah *Rivina humilis* L. Tanaman yang dikenal juga dengan sebutan getih-getihan, merupakan salah satu tanaman dari famili Phytolaccaceae. Tanaman ini berbentuk semak, yang dapat tumbuh hingga 120 cm. Buahnya berwarna merah cerah dan berbentuk seperti beri. *R. humilis* berasal dari Meksiko, Hindia Barat, dan Amerika Selatan. Tanaman ini tumbuh dengan baik di Karibia dan saat ini tersebar di wilayah Indonesia, Malaysia, China, Pasifik, dan Afrika (Tseng *et al*, 2008; Fathima *et al*, 2012). Tanaman getih-

getihan biasanya tumbuh liar dan belum banyak pemanfaatannya (Hidayah *et al*, 2016).

Beberapa senyawa yang banyak terdapat pada buah getih-getihan adalah pigmen betalain, betaxanthin, dan humilixanthin (Strack *et al*, 1987; Khan *et al*, 2012). Berdasarkan warna yang dihasilkan, betalain dibagi menjadi dua kelompok, yaitu betasianin yang berwarna merah-ungu dan betaxanthin yang berwarna kuning (Esatbeyoglu *et al*, 2015). Tanaman lain dari famili Phytolaccaceae juga mengandung alkaloid berupa senyawa betanin (Krochmal *et al*, 1970). Daun tanaman getih-getihan mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan steroid (Krochmal *et al*, 1970). Selain pada *R. humilis*, betanin juga ditemukan pada tanaman *Beta vulgaris* atau dikenal dengan buah bit (Coy-Barrera, 2020).

Salah satu betasianin yang paling banyak terdapat pada tumbuhan adalah betanin (betanidin-5-O- β -glukosida). Betanin disebut juga *phytolaccamin*, yaitu pigmen merah yang larut air dan banyak digunakan sebagai pewarna makanan, kosmetik, produk beku, dan produk dengan waktu simpan yang singkat (Esatbeyoglu *et al*, 2015). Betanin memiliki rumus molekul $C_{24}H_{26}N_2O_{13}$ dan berat molekul 550,5 g/mol (National Center for Biotechnology Information, 2020). Warna betanin dipengaruhi oleh pH pada



Gambar 1. Tanaman *Rivina Humilis* L (Guin, 2015).

kisaran nilai 4-5. Betanin akan berwarna kebiruan dan biru keunguan pada pH di atas 5 (Singh dan Bharati, 2014).

Proses isolasi diperlukan untuk mengetahui aktivitas senyawa betanin. Isolasi senyawa kimia pada tumbuhan sangat penting untuk memisahkan dan mengetahui peran senyawa tersebut dalam pencegahan maupun pengobatan suatu penyakit, serta membantu mengetahui efek toksik suatu senyawa (Srivastava *et al*, 2012). Pemisahan juga akan membantu mengidentifikasi senyawa betanin dalam tanaman getih-getihan. Hal ini karena dalam suatu ekstrak tanaman, terdapat banyak campuran senyawa bioaktif. Maka untuk memperoleh satu senyawa, proses yang dilakukan harus menggunakan metode yang sesuai dengan sifat betanin (Ingle *et al*, 2017).

Oleh karena latar belakang tersebut, artikel ini akan membahas mengenai proses isolasi, identifikasi, dan aktivitas farmakologi senyawa betanin sehingga dapat membantu mengembangkan pemanfaatan senyawa betanin dalam bidang kesehatan.

METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah studi literatur. Jurnal yang digunakan dalam studi literatur diperoleh dari mesin pencarian “Google” pada laman “NCBI”, “ScienceDirect”, serta laman jurnal nasional maupun internasional lainnya. Kata kunci yang digunakan selama pencarian antara lain “betanin”, “*betanin isolation from Rivina humilis fruit*”, “getih-getihan”, “*betanin identification*”, dan “*pharmacology activity of betanin*”. Sumber-sumber yang memenuhi kriteria inklusi adalah artikel penelitian yang membahas mengenai kata kunci yang dibutuhkan, artikel terbitan sepuluh tahun terakhir serta artikel *fulltext* dan tidak berbayar. Sedangkan artikel yang dieksklusi adalah artikel yang tidak dalam

bahasa Inggris atau Indonesia, serta artikel yang merupakan *review article*. Selama pengumpulan sumber, didapatkan sebanyak 50 artikel yang berhubungan dengan kata kunci yang dibutuhkan. Namun, artikel yang digunakan sebagai sumber dalam penulisan ini adalah sebanyak 36 artikel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Tinjauan botani

Rivina humilis L. merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Phytolaccaceae, dengan genus Rivina. Tanaman ini merupakan tumbuhan perdu hingga berkayu dengan tinggi mencapai 1 meter. Getih-getihan memiliki batang yang tegak dan bercabang dikotomis. Daun tanaman berbentuk elips sampai bulat seperti telur yang panjangnya hingga 12 cm dan memiliki bau tidak sedap ketika diremas. Bunga tanaman ini kecil dengan panjang tangkai hingga 5 mm. Buah tanaman ini adalah beri berwarna merah atau oranye dengan diameter 3-4 mm, memiliki biji berbulu dengan diameter 3 mm (CAB International, 2020). Terdapat 10 pigmen betalain yang teridentifikasi dalam buah tanaman ini. Dua diantaranya adalah betaxanthin dan betasianin yang telah terkonfirmasi memiliki aktivitas antioksidan dan bersifat sitotoksik (Khan *et al*, 2012).

b. Sifat fisika dan kimia

Betanin (*betanidin-5-O- β -glucoside*) merupakan betasianin yang paling umum terdapat dalam dunia tanaman. Betanin tersusun dari senyawa aglikon betanidin yang terhubung pada beta-glikosidik dengan unit glukosa pada atom C₅. Betanin memiliki aktivitas pengaturan gen melalui *nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2-(Nrf2)* yang tergantung pada jalur persinyalannya. Betanin dapat mencegah oksidasi pada *low-density lipoprotein* (LDL) dan kerusakan DNA (Esatbeyoglu *et al*, 2015). Betanin memiliki warna

dasar merah hingga merah tua. Betanin berbentuk padatan seperti pasta dan bubuk. Betanin larut dalam air, yaitu sebesar 5391 mg/L pada suhu 25°C (CAB International, 2020). Senyawa betanin memiliki rumus molekul $C_{24}H_{26}N_2O_{13}$ dan memiliki berat molekul 550,5 mg/mol (National Center for Biotechnology Information, 2020).

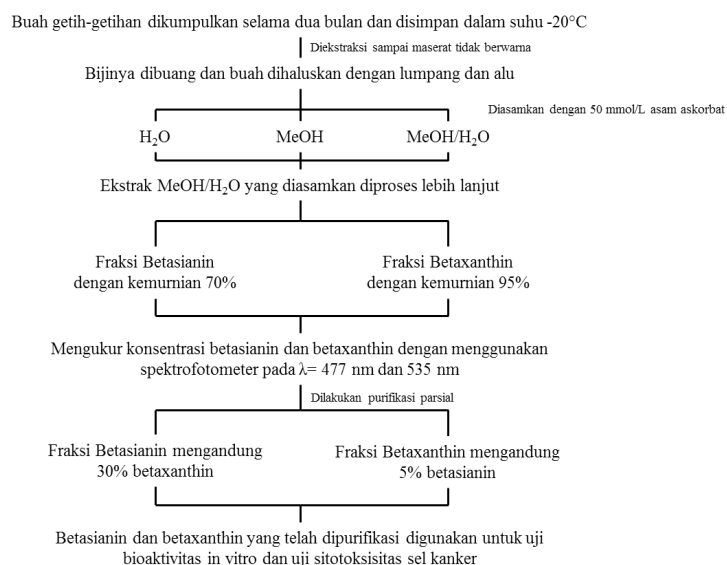
Betanin sebagai senyawa alkaloid terdapat pada tanaman *R. humilis* dan *Phytolacca americana* yang berasal dari famili yang sama. Selain itu, betanin merupakan pigmen berwarna ungu yang juga ditemukan pada tanaman dengan famili Centrospermae (Krochmal *et al*, 1970). Tanaman lain yang mengandung betanin adalah tanaman bit (*Beta vulgaris* L.). Sejauh ini, betanin masih diperoleh dari bagian konsentrat pada akar bit. Betanin dari tanaman bit diisolasi dengan metode kromatografi (Singh dan Bharati, 2014).

Betanin menjadi satu-satunya betasianin

yang diterima sebagai pewarna dalam produk makanan, kosmetik, dan produk farmasi dengan kode EEC No. E 162 oleh Uni Eropa, kode 73.40 pada judul 21 di dalam *Code of Federal Regulations* (CFR) yang ditetapkan oleh *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat (The Good Scents Company, 2020; European Food Safety Authority, 2015).

c. Isolasi senyawa

Identifikasi pigmen pada senyawa betalain pada tanaman *R. humilis* dilakukan pada buah getih-getihan matang oleh Khan *et al*, 2012. Buah tersebut dikumpulkan dan bijinya dibuang secara manual dan dihaluskan dengan menggunakan lumpang dan alu. Tiga jenis pelarut digunakan untuk ekstraksi buah getih-getihan, antara lain: air, metanol, dan metanol/air (yang diasamkan dengan 50 mmol/ (asam askorbat) hingga maserat

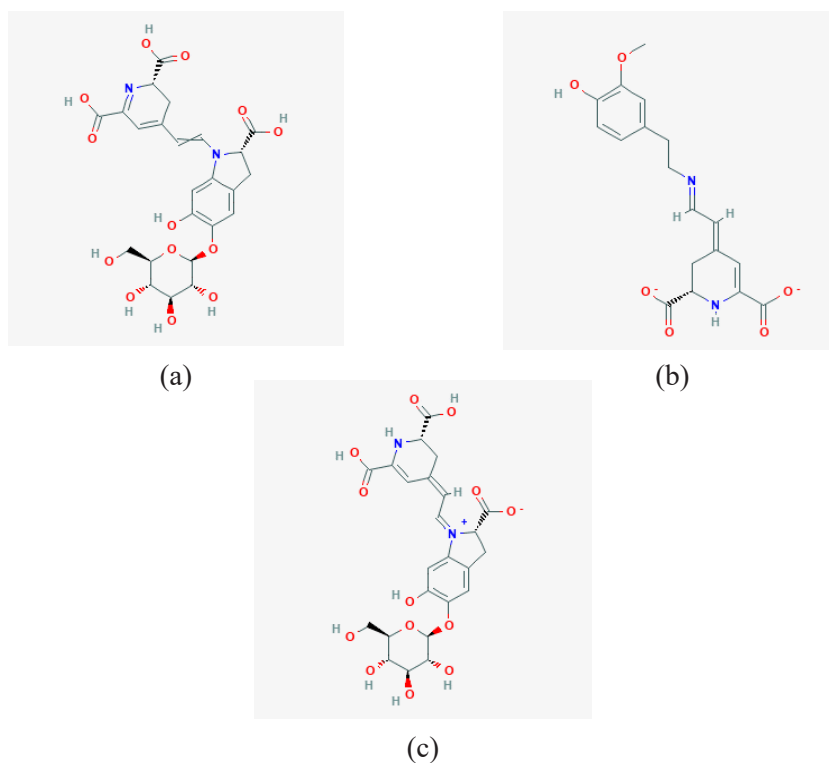


Gambar 2. Isolasi pigmen betalain pada *R. humilis* (Khan *et al*, 2012)

tidak berwarna. Kemudian pelarut tersebut diuapkan dengan menggunakan *flash evaporator*. Pigmen dengan jumlah terbanyak dikuantifikasi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 477 nm untuk betaxanthin dan 535 nm untuk betasianin. Nilai keduanya dijumlahkan sebagai betalain total. Analisis kromatografi

dilakukan dengan menggunakan HPLC dan spektrum massa didapatkan dengan menggunakan spektrofotometer massa Q-TOF. Alur isolasi digambarkan pada Gambar 2.

Pigmen pada *R. humilis* yang dapat diidentifikasi antara lain, betanin pada panjang gelombang 535 nm dan waktu retensi 8,53 menit;



Gambar 3. Struktur Betanin (Coy-Barrera, 2020), Betaxanthin (National Center for Biotechnology Information, 2020), Betasianin (National Center for Biotechnology Information, 2020)

betanidin pada panjang gelombang 535 nm dan waktu retensi 8,87 menit; dopamin-betaxanthin pada panjang gelombang 458 nm dan waktu retensi 10,75 menit. Hasil dari ekstrak air; metanol; dan metanol/air didapatkan masing-masing 0,35 gram; 0,29 gram; 0,3 gram pigmen dalam 100 gram ekstrak segar buah getih-getihan (Khan *et al*, 2012).

Sejauh ini, belum terdapat penelitian yang membahas mengenai proses purifikasi betanin dari tanaman *R. humilis*. Teknik yang ditelusuri adalah purifikasi betanin dari buah yang mengandung betalain terbanyak yaitu *Opuntia ficus-indica*. Purifikasi dilakukan dengan menggunakan metode *Aqueous two-phase system* (ATPS) (Santos *et al*, 2018).

d. Tinjauan farmakologi

Selain sebagai pigmen, betanin juga memiliki aktivitas secara farmakologi. Pada hasil

uji *in vitro* dan *in vivo*, betanin menunjukkan aktivitas utama sebagai antioksidan.

i. Uji praklinik

Efek antioksidan pada betanin berasal dari gugus amin siklik dan hidroksil yang berperan sebagai donor elektron dan hidrogen, sehingga dapat menstabilkan senyawa reaktif (da Silva *et al*, 2019). Aktivitas antioksidannya terjadi melalui beberapa mekanisme seperti inhibisi peroksidasi linoleat, inhibisi oksidasi *low density lipoproteins* (LDL), inhibisi ekspresi *intercellular cell adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan inhibisi *nitrosative stress* serta kerusakan DNA (Kanner *et al*, 2001; Esatbeyoglu *et al*, 2014; Gentile, 2004; Sakihama *et al*, 2012). Selain sebagai antioksidan, betanin juga memiliki aktivitas hepatoprotektor melalui inhibisi aktivitas sitokrom CYP2E1 dan CYP 3A2 yang menyebabkan kerusakan hati, serta sebagai antiinflamasi (Reddy *et al*, 2005; Han *et al*, 2013; Han *et al*, 2014). Pengujian secara *in vitro* dan *in*

Tabel 1. Uji Praklinik Senyawa Betanin

Aktivitas Farmakologi	Mekanisme	Hasil	Sumber
Antioksidan	1. Inhibisi peroksidasi linoleat oleh sitokrom c.	1. Inhibisi peroksidase linoleat dengan nilai IC50 sebesar 0,4 µmol/L.	Kanner <i>et al</i> , 2001; Esatbeyoglu <i>et al</i> , 2014; Gentile, 2004; Sakihama <i>et al</i> , 2012.
	2. Inhibisi oksidasi <i>low-density lipoproteins</i> (LDL) dengan aktivasi enzim <i>paraoxonase 1</i> (PON1) di hati.	2. Inhibisi LDL dengan nilai IC50 < 2,5 µM.	
	3. Inhibisi ekspresi <i>intercellular cell adhesion molecule-1</i> (ICAM-1).	3. Inhibisi ekspresi ICAM-1 sebesar 30% pada konsentrasi 5 µM.	
	4. Inhibisi <i>nitrosative stress</i> dan kerusakan rantai DNA.	4. Melindungi DNA dari kerusakan oksidatif dengan nilai IC50 19,2 µM yang lebih rendah dari asam askorbat (IC50 79,6 µM).	
Antiinflamasi	Inhibisi enzim cyclooxygenase (COX) 1 dan 2	Menghambat 33,5% COX 1 dan 97% enzim COX 2 pada konsentrasi 100 µg/ mL.	Reddy <i>et al</i> , 2005.
Hepatoprotektor	1. Inhibisi aktivitas CYP2E1 yang menyebabkan kerusakan hati akibat induksi karbon tetraklorida (CCl4).	Pemberian sebanyak 100 mg/ kg menyebabkan penurunan yang signifikan terhadap serum marker pada hati, yaitu <i>Aspartate Aminotransferase (AST)</i> dan <i>Alanine Aminotransferase (ALT)</i> .	Han <i>et al</i> , 2013; Han <i>et al</i> , 2014.
	2. Inhibisi ekspresi CYP 3A2 dan melindungi mitokondria pada sel hati.		

Tabel 2. Uji Klinik Senyawa Betanin

Aktivitas Farmakologi	Mekanisme	Hasil	Sumber
Antihiperlipidemia	Pemberian tablet yang mengandung betalains 30 mg sebanyak 3 kali sehari	Penurunan konsentrasi LDL yang teroksidasi dan peningkatan ekspresi dari <i>NAD-Dependant histon deacetylase</i>	Pietrkowski dan Thresher, 2010.
Antiinflamasi dan Anti stress oksidatif	Pemberian suplemen ekstrak bit yang mengandung 50 mg betanin dan 50 mg betasianin pada subjek dengan penyakit arteri koroner selama lima minggu	Peningkatan ekspresi gen SIRT1 dan protein Penurunan ekspresi gen LOX1	Rahimi <i>et al</i> , 2019.
Antihiperlipidemia	Pemberian suplemen ekstrak bit yang mengandung 50 mg betanin dan 50 mg betasianin pada subjek dengan penyakit arteri koroner selama lima minggu	Penurunan non-HDL-C dan LDL Peningkatan perbaikan profil lemak	Rahimi <i>et al</i> , 2019.
Antidiabetes	Pemberian 225 mL jus buah bit (<i>Beet It®</i>) yang mengandung betanin kepada subjek sehat	Penurunan gula darah postprandial secara signifikan ($p < 0.05$) pada menit ke 0 - 30 setelah mengonsumsi jus	Wootton-Beard <i>et al</i> , 2014.
Antihiperlipidemia	Pemberian satu porsi jus dari bulir buah kaktus pir berduri yang mengandung 20 mg betanin dan 25 mg indicaxanthin kepada subjek	Terjadi penurunan kadar LDL yang teroksidasi dan terdapat 0,62% LDL yang berikatan dengan betanin.	Tesoriere <i>et al</i> , 2005.

vivo dari betanin ditunjukkan pada Tabel 1.

ii. Uji klinik

Selain itu, aktivitas dari senyawa betanin juga telah teruji secara klinis yang disajikan pada Tabel 2. Uji klinik yang dilakukan oleh Pietrzkowski pada dan Thresher (2012) menunjukkan bahwa ekstrak bit dengan kandungan betalain sebesar 24,6% yang diformulasikan dan diadministrasikan ke manusia dapat mengurangi rasa nyeri pada osteoarthritis sebesar 33%. Selain itu penelitian oleh Pietrzkowski pada dan Thresher (2012) mengatakan bahwa formula tersebut efektif untuk mengobati jerawat, dermatitis, sinusitis, dan alergi. Akan tetapi desain eksperimen yang digunakan adalah uji klinik terbuka, bukan uji efikasi klinik karena pengujian hanya dilakukan terhadap satu pria dan satu wanita. Formula tersebut juga efektif dalam menjaga profil lemak yang meliputi peningkatan rasio HDL/LDL, berkurangnya konsentrasi LDL yang teroksidasi, inhibisi stress oksidasi, dan peningkatan ekspresi *NAD-dependent histon deacetylase* (Pietrzkowski dan Thresher, 2010).

Penurunan konsentrasi LDL setelah konsumsi betanin juga terbukti pada penelitian Tesoriere *et al*, 2004 dan Rahimi *et al*, 2019. Pada penelitian oleh Tesoriere, subjek diberikan satu porsi bulir buah *cactus pear* yang mengandung 20 mg betanin dan 25 mg indicaxanthin. Hasil analisis pada darah subjek menunjukkan bahwa terdapat LDL yang berikatan dengan betalain sebesar 0,62 % (Tesoriere *et al*, 2005).

Sementara itu pada penelitian oleh Rahimi *et al*, 2019 subjek dengan penyakit arteri koroner yang diberikan suplemen ekstrak bit yang mengandung 50 mg betanin dan 50 mg betasianin selama lima minggu menunjukkan penurunan non-HDL-C dan LDL pada darah serta peningkatan perbaikan profil lemak. Pada penelitian oleh Rahimi *et al*, 2019 pemberian suplemen ekstrak

bit juga dapat mengatasi stress oksidasi, inflamasi, dan penyakit yang berhubungan dengan penuaan. Hal tersebut ditunjukkan oleh peningkatan ekspresi gen SIRT1 dan protein serta penurunan ekspresi gen LOX1 (Rahimi *et al*, 2019).

Selain itu, betanin juga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Hal tersebut ditunjukkan pada penelitian Wootton-Beard *et al* pada 2014, dimana dilakukan pemberian 225 mL jus bit (*Beet It®*) yang mengandung betalain kepada subjek sehat. Hasil analisis menunjukkan terjadinya penurunan gula darah postprandial secara signifikan ($p < 0.05$) pada menit ke 0 hingga ke 30 setelah konsumsi dari jus (Wootton-Beard *et al*, 2014).

SIMPULAN

Rivina humilis L. merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai tanaman obat. Telah dilakukan proses isolasi dan purifikasi dari senyawa turunan betalain yang terkandung dalam tanaman ini, yaitu betasianin dan betaxanthin menggunakan tiga macam pelarut, yaitu metanol, air, dan campuran metanol/air. Salah satu senyawa betasianin, yaitu betanin merupakan senyawa alkaloid berupa pigmen dari famili Phytolaccaceae. Betanin menjadi satu-satunya senyawa betasianin yang diterima sebagai pewarna dalam produk makanan, kosmetik, dan produk farmasi. Selain sebagai pigmen, betanin memiliki aktivitas farmakologi yang sudah diteliti baik secara *in vitro*, *in vivo* maupun klinik. Adapun aktivitas utama senyawa betanin adalah sebagai antioksidan alami. Oleh karena aktivitas beragam yang telah teruji pada senyawa betanin, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang isolasi senyawa betanin dari *Rivina humilis*.

DAFTAR PUSTAKA

CAB International. *Rivina humilis*

- (bloodberry) [Internet]. 2020. Available from: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/116742#37F26290-8AC5-47C5-A0F2-BAD62A229BE7>.
- Coy-Barrera E. Analysis of betalains (betacyanins and betaxanthins). In: Recent Advances in Natural Products Analysis [Internet]. Elsevier; 2020. p. 593–619. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128164556000172>.
- da Silva DVT, Pereira AD, Boaventura GT, Ribeiro RSDA, Verícimo MA, Carvalho-Pinto CE de, et al. Short-Term Betanin Intake Reduces Oxidative Stress in Wistar Rats. *Nutrients* [Internet]. 2019 Aug 22;11(9):1978. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/1978>
- Esatbeyoglu T, Wagner AE, Motafakkerazad R, Nakajima Y, Matsugo S, Rimbach G. Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2014 Nov;73:119–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.08.007>.
- Esatbeyoglu T, Wagner AE, Schini-Kerth VB, Rimbach G. Betanin-A food colorant with biological activity. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2015 Jan;59(1):36–47. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.201400484>.
- European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the re-evaluation of beetroot red (E 162) as a food additive. *EFSA J* [Internet]. 2015 Dec;13(12):4318. Available from: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2015.4318>.
- Fathima M, Tilton F. Phytochemical analysis and antioxidant activity of leaf extracts of *Rivina humilis* L. 2012;4(11):326–30.
- Gentile C. Antioxidant Betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) Inhibit Endothelial ICAM-1 Expression. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2004 Dec 1;1028(1):481–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1322.057>
- Guin K. *Rivina Humilis* L. [Internet]. 2015. Available from: <https://www.gbif.org/species/3084027>.
- Han J, Gao C, Yang S, Wang J, Tan D. Betanin attenuates carbon tetrachloride (CCl₄)-induced liver injury in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiol Biochem* [Internet]. 2013 Jun 23;40(3):865–74. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10695-013-9892-5>.
- Han J, Zhang Z, Yang S, Wang J, Yang X, Tan D. Betanin attenuates paraquat-induced liver toxicity through a mitochondrial pathway. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2014;70:100–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.04.038>.
- Hidayah WW, Kusrini D, Fachriyah E. Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-Getihan (*Rivina humilis* L.) dan Uji Aktivitas sebagai Antibakteri. *J Kim Sains dan Apl* [Internet]. 2016 Apr 1;19(1):32–7. Available from: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18755>.
- Ingle KP, Deshmukh AG, Padole DA, Dudhare MS, Moharil MP, Khelurkar VC. Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *J Pharmacogn Phytochem*. 2017;6(1):32–6.
- Kanner J, Harel S, Granit R. Betalains A New Class of Dietary Cationized Antioxidants. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2001 Nov;49(11):5178–85. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf010456f>

- Khan MI, Sri Harsha PSC, Giridhar P, Ravishankar GA. Pigment identification, nutritional composition, bioactivity, and in vitro cancer cell cytotoxicity of *Rivina humilis* L. berries, potential source of betalains. *LWT* [Internet]. 2012 Jul;47(2):315–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.025>.
- Krochmal A, LeQuesne P. Pokeweed (*Phytolacca americana*): *Possible Source of a Molluscicide*. Northeastern Forest Experiment Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture. 1970.
- Kusmana C, Hikmat A. The Biodiversity of Flora in Indonesia. *J Nat Resour Environ Manag* [Internet]. 2015 Dec 30;5(2):187–98. Available from: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jpsl/article/view/10962>.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 91559, Betanine [Internet]. 2020. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Betanine#section=3D-Conformer>.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 135926572, Betanine [Internet]. 2021. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/135926572>.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 6324775, Betanine [Internet]. 2021. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6324775>.
- Nemzer B, Pietrzowski Z, Spórna A, Stalica P, Thresher W, Michałowski T, et al. Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chem* [Internet]. 2011 Jul;127(1):42–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.081>
- Pietrzowski Z, Thresher WC. *Solid betalain compositions and methods*. 2010.
- Pietrzowski. Betalain compositions and uses thereof [Internet]. 2015. Available from: <https://patents.google.com/patent/US9060539B2/en>.
- Rahimi P, Mesbah-Namin SA, Ostadrahimi A, Abedimanesh S, Separham A, Asghary Jafarabadi M. Effects of betalains on atherogenic risk factors in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. *Food Funct* [Internet]. 2019;10(12):8286–97. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C9FO02020A>.
- Rahimi P, Mesbah-Namin SA, Ostadrahimi A, Separham A, Asghari Jafarabadi M. Betalain- and betacyanin-rich supplements' impacts on the PBMC SIRT1 and LOX1 genes expression and Sirtuin-1 protein levels in coronary artery disease patients: A pilot crossover clinical trial. *J Funct Foods* [Internet]. 2019 Sep;60(April):103401. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.06.003>.
- Reddy MK, Alexander-Lindo RL, Nair MG. Relative Inhibition of Lipid Peroxidation, Cyclooxygenase Enzymes, and Human Tumor Cell Proliferation by Natural Food Colors. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2005 Nov;53(23):9268–73. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf051399j>.
- Sakihama Y, Maeda M, Hashimoto M, Tahara S, Hashidoko Y. Beetroot betalain inhibits peroxynitrite-mediated tyrosine nitration and DNA strand cleavage. *Free Radic Res* [Internet]. 2012 Jan 5;46(1):93–9. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10715762.2011.641157>

- Santos RP, Souza LM, Soares CMF, Lima ÁS, Souza RL. Liquid-liquid System in One-step to Purify Betanin from its Natural Source. *Chem Eng Trans*. 2018;64:1–6.
- Singh HB, Bharati KA. Enumeration of dyes. In: *Handbook of Natural Dyes and Pigments* [Internet]. India: Elsevier; 2014. p. 33–260. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978938030854850006X>.
- Siswanto. Pengembangan Kesehatan Tradisional Indonesia: Konsep, Strategi dan Tantangan. *J Penelit dan Pengemb Pelayanan Kesehat* [Internet]. 2017 Sep 12;1(1):17–31. Available from: <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/jpppk/article/view/429>.
- Srivastava N, Chauhan AS, Sharma B. Isolation and Characterization of Some Phytochemicals from Indian Traditional Plants. *Biotechnol Res Int* [Internet]. 2012 Dec 11;2012:1–8. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/btri/2012/549850/>.
- Strack D, Schmitt D, Reznik H, Boland W, Grotjahn L, Wray V. Humilixanthin a new betaxanthin from *Rivina humilis*. *Phytochemistry* [Internet]. 1987 Jan;26(8):2285–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942200847020>.
- The Good Scents Company. Betanine [Internet]. 2020. Available from: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1607041.html#toorgano>.
- Tseng YH, Wang CC, Chen YT. *Rivina humilis* L. (Phytolaccaceae), a newly naturalized plant in Taiwan. *Taiwania* [Internet]. 2008;53(4):417–9. Available from: <http://tai2.ntu.edu.tw/taiwania>.
- Tesoriere L, Butera D, Allegra M, Fazzari M, Livrea MA. Distribution of Betalain Pigments in Red Blood Cells after Consumption of Cactus Pear Fruits and Increased Resistance of the Cells to ex Vivo Induced Oxidative Hemolysis in Humans. *J Agric Food Chem*. 2005;53(4):1266–70.
- Wootton-Beard PC, Brandt K, Fell D, Warner S, Ryan L. Effects of a beetroot juice with high neobetanin content on the early-phase insulin response in healthy volunteers. *J Nutr Sci* [Internet]. 2014 Apr 30;3(9):1–9. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S204867901400007X/type/journal_article.