

***Butylated hydroxyanisole* sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan dilihat dari Perspektif Kesehatan**

Nyoman Fitri

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI
email: nfitrix@yahoo.com

Diterima: 21 Juni 2013

Direvisi: 22 Agustus 2013

Disetujui: 3 Desember 2013

Abstract

Butylated hydroxyanisole (BHA) is widely used since 1947 as antioxidant food additives used to prevent oils, fats and shortenings from oxidative deterioration and rancidity. It has been extensively studied for potential activities and its toxicities. This review summarized experimental studies that had been carried out on animals and humans as well. We also briefly reviewed about its absorptions, metabolisms, excretions and carcinogenicity from health perspective. At present there is sufficient evidence for carcinogenicity of BHA, but there is hardly any indication that BHA is genotoxic.

Keywords: Butylated hydroxyanisole, Additive, Effect, Carcinogenicity, Toxicity

Abstrak

Butylated hydroxyanisole (BHA) sebagai senyawa aditif pada makanan telah digunakan secara luas sejak tahun 1947. Senyawa ini biasa digunakan sebagai antioksidan untuk mencegah makanan tersebut dari kerusakan oksidatif. Banyak penelitian telah mempelajari senyawa ini secara luas, baik tentang efek yang disebabkan, sifat karsinogennya, ataupun toksisitas yang disebabkan. Artikel ini membahas tentang hasil penelitian eksperimental yang telah dilakukan tentang penggunaan BHA, baik pada hewan maupun pada manusia. Kami juga membahas tentang absorpsi, metabolisme, ekskresi dan sifat karsinogennya dari perspektif kesehatan. Saat ini beberapa penelitian telah dapat membuktikan tentang efek karsinogenik dari BHA, tapi belum ditemukan penelitian yang mengindikasikan bahwa BHA adalah bersifat genotoksik.

Kata Kunci: Butylated hydroxyanisole, BHA, Zat aditif, Karsinogenitas, Toksisitas

Pendahuluan

Bahan aditif adalah zat-zat yang ditambahkan pada makanan, kosmetika, maupun obat-obatan selama proses produksi, pengemasan, atau penyimpanan untuk maksud tertentu. Penambahan bahan aditif (bahan tambahan pangan) dimaksudkan untuk memperbaiki penampilan, cita rasa, tekstur, dan memperpanjang daya simpan sehingga dapat menjaga kestabilan mutu yang mungkin rusak pada proses

pengolahan tersebut. Antioksidan merupakan salah satu bahan aditif yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid.^{1,2} Reaksi oksidasi merupakan salah satu proses destruktif yang dapat memutus rantai molekul dan menghasilkan radikal bebas.

Di Indonesia, penggunaan bahan makanan tambahan tersebut telah diatur oleh pemerintah berdasarkan Undang-Undang

Republik Indonesia Nomor 18 tahun 2012 tentang pangan yang didalamnya menjelaskan tentang bahan tambahan makanan yang tujuannya agar bahan tambahan makanan yang digunakan aman untuk dikonsumsi dan tidak membahayakan bagi tubuh.³ Dalam undang-undang ini dicantumkan bahwa

“keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi.”

Pada mulanya penggunaan bahan tambahan pangan sebagai antioksidan pada makanan hanya menggunakan bahan alami. Sejalan dengan perkembangan zaman dan bertambahnya jumlah manusia dan kebutuhannya yang semakin meningkat, maka dicarilah berbagai cara untuk mendapatkan senyawa antioksidan sintetis agar dapat diproduksi dengan lebih cepat. Saat ini, di Indonesia, ada 13 jenis antioksidan yang diperbolehkan sebagai bahan tambahan pangan berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 033 tahun 2012 (Tabel 1).⁴

Antioksidan alami digolongkan menjadi enzim dan vitamin. Antioksidan berupa enzim yang dihasilkan oleh tubuh berupa *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase*, dan *katalase*. Sedangkan vitamin di dapatkan dari bahan makanan yang berupa buah dan sayur, misalnya alfatokoferol (vitamin E), beta karoten (vitamin A), dan asam askorbat (vitamin C).⁵ Anti-oksidan alami yang berasal dari tumbuhan, pada umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik

yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional (asam organik dengan dua atau lebih gugus fungsional).^{1,6,7}

Antioksidan sintetis banyak digunakan dalam campuran produk makanan. Senyawa ini dapat berasal dari derivat antioksidan alami (misalnya analog alfa tokoferol), anti-oksidan golongan fenol (misalnya butil hidroksi anisol dan butil hidroksi toluen), dan senyawa yang mengandung gugus sulfhidril (misalnya thiazolidin, ebselen, dan dithiolethion).^{8,9} Diantara beberapa contoh antioksidan sintetis yang diijinkan untuk makanan, ada lima antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar diseluruh dunia, yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluene (BHT), propil galat, Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dan analog alfa tokoferol.^{7,8}

Artikel ini akan membahas Butil Hidroksi Anisol (BHA) sebagai antioksidan dilihat dari perspektif kesehatan.

Metode

Metode yang digunakan dalam kajian ini adalah telaah referensi dari berbagai sumber data. Referensi utama yang digunakan berasal dari makalah-makalah yang membahas penggunaan BHA baik di Indonesia maupun di negara lainnya. Pencarian referensi dilakukan melalui internet dengan menggunakan kata kunci *butylated hydroxy-anisole* dan aditif makanan sintetis. Pengembangan pencarian referensi selanjutnya adalah mencari referensi yang berkaitan dengan penelitian yang dilakukan untuk melihat efek BHA sebagai antioksidan sintetis. Sebagai pembandingan, efek antioksidan alami juga turut dibahas dalam artikel ini.

Pembahasan

Tabel 1. Daftar bahan tambahan pangan sebagai antioksidan yang terdaftar dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012⁴

No.	Nama Senyawa
1	Asam askorbat (<i>Ascorbic acid</i>)
2	Natrium askorbat (<i>Sodium ascorbate</i>)
3	Kalsium askorbat (<i>Calcium ascorbate</i>)
4	Kalium askorbat (<i>Potassium ascorbate</i>)
5	Askorbil palmitat (<i>Ascorbyl palmitate</i>)
6	Askorbil stearat (<i>Ascorbyl stearate</i>)
7	Tokoferol (<i>Tocopherol</i>) d-alfa tokoferol (<i>d-alpha-Tocopherol</i>) Tokoferol campuran pekat (<i>Mixed tocopherol concentrate</i>) dl-alfa tokoferol (<i>dl-alpha Tocopherol</i>) Gama tokoferol (<i>Gamma Tocopherol</i>)
8	Propil galat (<i>Propyl gallate</i>)
9	Asam eritorbat (<i>Erythorbic acid</i>)
10	Natrium eritorbat (<i>Sodium erythorbate</i>)
11	Butyl hidrokinon tersier/ TBHQ (<i>Tertiary butylhydroquinone</i>)
12	Butil hidroksi anisol/ BHA (<i>Butylated hydroxyanisole</i>)
13	Butil hidroksi toluen / BHT (<i>Butylated hydroxytoluene</i>)

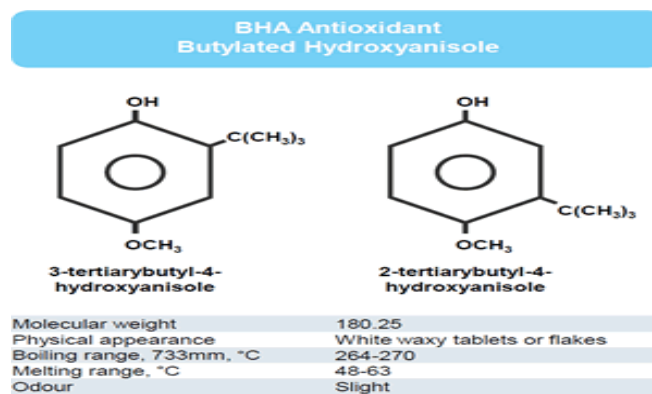
Butil Hidroksi Anisol (BHA)

BHA memiliki kemampuan antioksidan baik dilihat dari ketahanannya terhadap tahap-tahap pengelolaan maupun stabilitasnya pada produk akhir yang baik pada produk makanan yang mengandung lemak hewan, namun relatif tidak efektif pada makanan yang mengandung minyak tanaman.¹⁰

BHA adalah antioksidan yang merupakan gabungan dari 2 senyawa fenol isomerik, yaitu *2-tert-butyl-4-hydroxyanisole* dan *3-tert-butyl-4-hydroxyanisole*. Senyawa ini mempunyai sifat tidak dapat larut dalam air, tetapi larut dalam methanol dan ethanol.¹⁰ BHA juga sering digunakan

sebagai aditif pada makanan dan kosmetik karena sifatnya sebagai antioksidan.²

BHA mulai digunakan sejak tahun 1947 sebagai bahan tambahan dalam produk makanan yang mengandung minyak untuk mencegah makanan menjadi basi. Bagian aktif dari BHA yang bertindak sebagai antioksidan adalah cincin aromatis terkonjugasinya yang dapat bertindak sebagai stabilisator untuk radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas selanjutnya dapat dihindari.¹¹ Antioksidan sintetik seperti BHA diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan vitamin E.¹²



**Gambar 1. Rumus bangun BHA ($C_{11}H_{16}O_2$) dalam campuran.²³
2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole dan 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole merupakan kedua isomer BHA**

Penggunaan dan kontroversinya

Keamanan pangan diselenggarakan untuk menjaga pangan tetap aman, higienis, bermutu, bergizi, dan tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat. Keamanan pangan juga dimaksudkan untuk mencegah kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Penyelenggaraan keamanan pangan dilakukan salah satunya melalui pengaturan terhadap bahan tambahan pangan. Dalam Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 tahun 2012 pasal 75 ayat 1 dicantumkan juga bahwa “Setiap orang yang memproduksi pangan untuk diedarkan dilarang menggunakan bahan apapun sebagai bahan tambahan pangan yang dinyatakan terlarang atau melampaui ambang batas maksimal yang telah ditetapkan dan/atau bahan yang dilarang digunakan sebagai bahan tambahan pangan”. Disebutkan juga bahwa “pemerintah menetapkan lebih lanjut bahan yang dilarang dan atau dapat digunakan sebagai bahan tambahan pangan dalam kegiatan atau proses produksi pangan serta ambang batas maksimalnya...” Bahan tambahan pangan lebih rinci lagi kemudian diatur didalam

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan.

Seperti sebagian besar bahan tambahan buatan lainnya, penggunaan BHA dalam makanan juga mempunyai pro dan kontra. *National Institute of Health* Amerika Serikat melaporkan bahwa penggunaan BHA dalam makanan dapat menjadi senyawa karsinogen berdasarkan efek karsinogeniknya pada hewan coba. Pada eksperimen dengan menggunakan tikus, pemberian BHA dosis tinggi dalam makanan telah menimbulkan papilloma dan *squamous cell carcinoma*. Pada mencit, efek buruk ini tidak terjadi, bahkan efek yang timbul adalah efek protektif terhadap kanker dari senyawa kimia.^{13,14}

Clegg, et al menyatakan bahwa pada tikus dan mencit yang telah diberikan BHA pada 3 macam dosis yang berbeda, ia tidak menemukan efek embriotoksik yang signifikan.¹⁵ Abnormalitas yang dapat ditemukan dipertimbangkan sebagai sesuatu yang spontan (*spontaneous in origin*), karena mereka timbul pada grup kontrol maupun grup yang diperlakukan.

Pada manusia, penggunaan BHA kadar rendah tidak menunjukkan hubungan yang signifikan terhadap meningkatnya resiko

kanker¹⁶. Sedangkan, beberapa penelitian telah menemukan bahwa BHA dapat menyebabkan reaksi alergi dan pada dosis besar dapat berefek pada fungsi ginjal dan hati.^{17,18}

The Select Committee on GRAS (Generally Regarded as Safe) Substances dari U.S. Food and Drug Administration (FDA) melaporkan bahwa pada tahun 1980 tidak ada bukti nyata bahwa BHA merupakan senyawa yang membahayakan. Tetapi, tetap diinformasikan kemungkinan adanya resiko pada penggunaannya oleh manusia. Saat ini FDA telah membatasi konsentrasi BHA dalam penggunaannya pada makanan komersial, yaitu sebesar 0,02% pada produk yang mengandung minyak dan lemak. *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* telah menentukan bahwa Asupan Harian yang Diijinkan (*Acceptable Daily Intake/ ADI*) untuk BHA adalah 0,05-0,2 mg/kg bb.^{11,32} Sebaliknya, beberapa ahli saat ini telah melarang penggunaan BHA dalam makanan dan menganjurkan untuk memilih penggunaan antioksidan alami yang lebih aman.⁶ Sebuah penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi *curcumin* yang dibutuhkan untuk menetralkan sekitar 80% reaksi per-oksidasi adalah sebesar 4 µM, sedangkan antioksidan sintetik seperti BHA pada konsentrasi yang sama hanya memberikan sekitar 53-59% penghambatan.¹⁰ BHA sebagai antioksidan sintetik juga menunjukkan solubilitas yang rendah dan aktivitas antioksidan yang sedang.⁶

Absorpsi, metabolisme dan ekskresi

Absorpsi dan metabolisme BHA telah diteliti pada tikus, kelinci, anjing, kera, dan manusia. BHA dapat secara cepat diabsorpsi dari saluran gastrointestinal pada tikus, kelinci, anjing dan manusia.

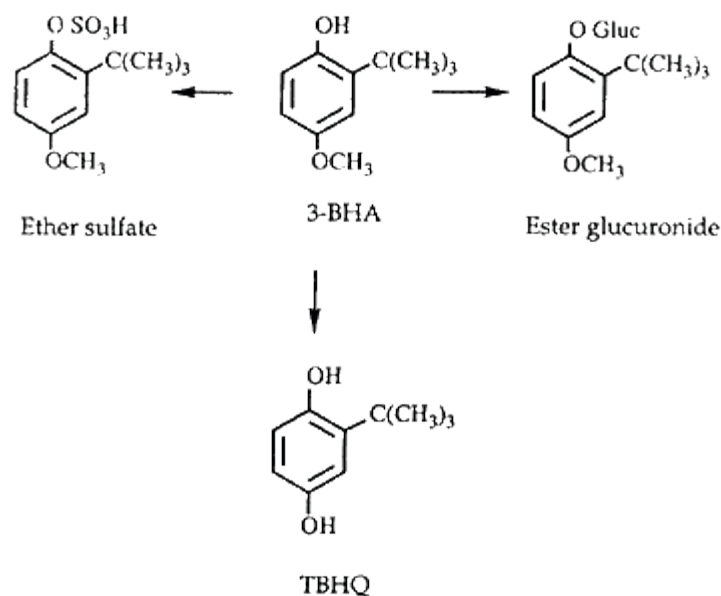
BHA dapat di metabolisme secara cepat, dan diekskresikan secara utuh.²¹

Metabolit utama dari BHA adalah glukoronida, eter sulfat, dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) yang merupakan senyawa fenol bebas.^{7,22} (Gambar 2). Metabolit-metabolit ini diekskresikan di urin, sedangkan BHA yang belum mengalami perubahan akan dieliminasi melalui feses.

Proporsi dari metabolit-metabolit ini beragam tergantung pada spesies dan level dosis yang diberikan. Sebesar 86% diekskresikan melalui urin dalam waktu 24 jam dan 91% dalam waktu 4 hari. Pada manusia, 22-72% pemberian dosis oral pada level 0,5-0,7 mg/kg bb didapatkan kembali sebagai glukoronida dalam waktu 24 jam, dan kurang dari 1% dalam bentuk BHA bebas. Ditemukan juga eter sulfat dalam jumlah sangat kecil.⁷

Retensi BHA dalam jaringan lebih besar pada manusia dibandingkan pada tikus. Artinya, dibutuhkan dosis BHA yang lebih kecil untuk memproduksi level dalam plasma tertentu pada manusia dari pada tikus.⁷

Penelitian jangka pendek telah dilakukan terhadap beberapa jenis spesies, termasuk tikus, kelinci, dan anjing. Pemberian 0,25 dan 0,75% BHA pada mencit betina diketahui dapat melindungi dari keracunan akut monokrotalin, suatu alkaloid pirolizidin yang beracun yang terdapat pada tanaman genus *Crotalaria*.^{24,25} Pada kelinci, dosis besar BHA (1 g/hari) diberikan dengan *stomach tube* selama 56 hari telah menyebabkan peningkatan pada ekskresi sodium 10 kali lipat dan 20% peningkatan pada ekskresi potasium di urin. Tidak ada efek samping yang ditemukan pada pemberian BHA 0,3; 30; atau 100 mg/kg bb pada anjing selama 1 tahun.¹¹



Gambar 2. Metabolit utama dari BHA (dalam bentuk 3-BHA): ether sulfat, ester glucuronide, dan TBHQ. ⁷

Pada dosis tinggi (500 mg/kg bb per hari), BHA dapat menginduksi dan meningkatkan berat relatif hati pada tikus dan mencit. Pada tikus, perubahan yang mengikuti tergantung pada jenis dan cara pemberian. Ketika tikus diberikan BHA dengan *stomach tube*, berat relatif hati meningkat dengan peningkatan yang signifikan pada hari ketujuh setelah pemberian. Pada pemberian rutin, pembesaran hati tidak terlihat sampai dengan hari kelima.⁷ Saat diberikan pada kera dengan dosis 500 mg/kg bb selama 28 hari, BHA terbukti menginduksi pembesaran hati dan proliferasi retikulum.⁷

Toksisitas dan Pengaruhnya terhadap Enzim Hepatik

LD50 BHA dinyatakan sebesar 2200-5000 mg/kg bb pada tikus dan 2000 mg/kg bb pada mencit.^{11, 13}

BHA telah dilaporkan dapat menginduksi sejumlah enzim hepatic pada tikus dan mencit seperti *epoxide hydrolase*, *glutathione-S-transferase*, *glucose-6-phosphate dehydrogenase*, dan *biphenyl-4-hydroxylase*.^{7, 24}

Pada tikus yang diberikan 500-600 mg/kg bb dalam jangka waktu 10 minggu menunjukkan penurunan angka pertumbuhan dan penurunan aktivitas dari enzim katalase, peroksidase, dan kolinesterase.¹¹

Pada anjing, BHA pada konsentrasi 1% dan 1,3% dapat menginduksi pembesaran hati, proliferasi retikulum endoplasma, dan peningkatan pada aktivitas enzim hepatic. Beberapa perbedaan terlihat antara kera dan tikus. Pada kera, aktivitas dari enzim *glucose-6-phosphatase* menurun dan aktivitas *nitroanisole demethylase* meningkat, sedangkan pada tikus tidak ada perubahan yang terlihat pada level dosis yang sama.⁷

Efek Karsinogenik

Saat ini terdapat banyak penelitian yang memberikan bukti-bukti tentang efek karsinogenik dari BHA, tetapi belum ada indikasi yang dapat memperlihatkan bahwa BHA bersifat genotoksik. Mekanisme utama bagaimana BHA dapat menyebabkan kanker masih belum diketahui.

Pada penelitian jangka panjang sebelumnya, tidak ditemukan efek toksik pada penggunaan BHA pada tikus setelah 22 bulan dan pada anjing setelah 15 bulan. Tetapi pada penelitian berikutnya, Ito, et al melaporkan bahwa pada tikus F344, pemberian 2% BHA menghasilkan tingginya kejadian papilloma (pada hampir 100% pada binatang perlakuan) dan *squamous cell carcinoma* (sekitar 30% dari binatang perlakuan) pada *forestomach* yang merupakan bagian terdepan dari perut dan berfungsi sebagai ruang tempat menyimpan makanan.²⁶ (Gambar 3). Pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu 0,5%, tidak ada lesi neoplastik yang terlihat, tetapi *forestomach* hiperplasia terlihat.

Ito, et al. menunjukkan bahwa 3-BHA, serta dua metabolitnya yaitu *p-tert-butyl-phenol* dan *2-tert-butyl-4-methyl-phenol*, juga dapat menginduksi papilloma di *forestomach*.²⁶ Verhagen, et al. menunjukkan bahwa pada tikus tidak hanya pada *forestomach* tetapi juga di bagian *glandular stomach*, usus halus, jaringan kolorektal dan jaringan esophageal suseptibel terhadap efek proliferative dari BHA.^{27,28}

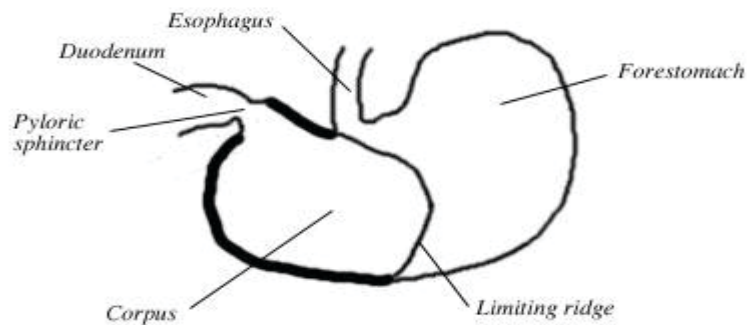
Hamsters bersifat lebih suseptibel terhadap BHA daripada tikus. Pada hamster yang diberikan 1% atau 2% BHA selama 24 dan 104 minggu, papilloma pada *forestomach* terlihat hampir di semua binatang coba dan *carcinoma* pada 7-10% pada grup dari 104 minggu perlakuan. Kejadian lesi yang lebih rendah tampak pada mencit yang diberikan 0,5% dan 1% BHA.⁷

Pengujian Karsinogenik terhadap Isomer

Pengujian karsinogenik terhadap isomer dilakukan untuk menentukan iso-

mer yang mana dari BHA yang bersifat karsinogenik atau apakah isomer tersebut mempunyai efek sinergis. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan isomer murni dan BHA mentah (*crude BHA*) pada hamster selama 1-4 minggu. Efek samping yang parah ditemukan dengan BHA mentah dan 3-isomer. Sedangkan pada 2-isomer tidak ditemukan efek.

Pada tikus yang diberikan 1 g/kg bb dari masing-masing isomer, 2-BHA juga aktif dalam menginduksi papilloma pada *forestomach*. Hiperplasia yang ditemukan bersifat reversibel, tetapi waktu yang dibutuhkan untuk penyembuhan (*recovery*) tergantung pada durasi dan tingkat perlakuan. Pada tikus yang diberikan 0,1-2,0% BHA selama 13 minggu, setelah perlakuan dihentikan, akan kembali normal setelah 9 minggu. Sementara itu, tikus yang diberikan 2% BHA selama 1, 2, atau 4 minggu diikuti periode penyembuhan selama 4 minggu, hiperplasia ringan dan perubahan epithelial yang diamati hampir hilang sama sekali pada minggu pertama. Perubahan yang paling parah dapat diamati pada 2 dan 4 minggu dimana grup mengalami regresi sebagian selama periode penyembuhan.⁷ Karena kemungkinan adanya relevansi pada manusia, penelitian ini kemudian dilakukan pada spesies lain termasuk kera dan babi, yang mana, seperti manusia, tidak mempunyai *forestomach*. Pada kera betina, BHA (125 atau 500 mg/kg bb) yang diberikan dengan *gavage* selama 12 minggu gagal untuk menginduksi perubahan histopatologi di perut dan esophagus. Pada anjing yang diberikan BHA pada dosis 0,25; 0,5; 1; dan 1,3% selama 6 bulan, tidak ditemukan perubahan histopatologi yang terlihat di perut, esofagus dan usus dua belas jari.



Gambar 3.
Diagram bagian perut tikus. Sumber: Moore 2000 ²⁹

Promoting Effect dan *Inhibitory Effect* dari BHA

Mekanisme bagaimana 3-BHA menginduksi *carcinoma* belum diketahui dengan jelas. Penelitian yang dilakukan oleh De Stafney, et al. menganjurkan bahwa ada dua faktor yang mungkin berperan penting. Satu diantaranya mungkin berkaitan dengan penurunan jumlah senyawa thiol. Yang kedua adalah adanya serangan (*attack*) oleh metabolit reaktif dari 3-BHA atau produk sekunder yang dihasilkan oleh metabolit ini.³⁰ Penelitian oleh Williams juga mengindikasikan bahwa BHA mempunyai efek pada sistem membran, memblokir pertukaran antara hepatosit dengan sel epitel. Hasil ini menunjukkan bahwa BHA merupakan karsinogen epigenetik yang bersifat *promoting effect*.³¹

BHA mempunyai sifat sebagai *promoting effect* ataupun *inhibitory effect* pada efek karsinogenik dari sejumlah karsinogen kimia. BHA dapat meningkatkan *forestomach carcinogenesis* yang disebabkan oleh N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine ataupun N-methylnitrosourea (MNU) pada tikus. BHA mempunyai *promoting effect* pada *urinary bladder carcinogenesis* yang disebabkan oleh MNU atau N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine dan *thyroid carcinogenesis* yang disebabkan oleh MNU pada tikus.

Sedangkan sifat *inhibitory effect* tampak pada *liver carcinogenesis* yang disebabkan oleh diethylnitrosamine atau N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine dan juga pada *mammary carcinogenesis* disebabkan oleh 7,12-dimethylbenz[a]anthracene.³¹

Kesimpulan

Seperti sebagian besar bahan aditif buatan lainnya, penggunaan BHA dalam makanan juga mempunyai pro dan kontra. Ketika sebuah penelitian menunjukkan bahwa penggunaan BHA mempunyai keuntungan, beberapa penelitian lainnya tidak menunjukkan adanya keuntungan, atau bahkan memberikan dampak negatif pada penggunaannya. Asupan Harian yang Diijinkan (*Acceptable Daily Intake, ADI*) sebesar 0-0,5 mg/kg bb adalah salah satu cara untuk membatasi penggunaan BHA supaya tidak memberikan dampak yang buruk bagi kesehatan, karena BHA diharapkan tidak akan bersifat karsinogen pada manusia apabila digunakan pada konsentrasi yang diperbolehkan.

Daftar Rujukan

1. Rajani GP, Ashok P. In vitro antioxidant and antihyperlipidemic activities of *Bauhinia variegata* Linn. Indian J. Pharmacol. 2009. 41(5): 227-232.
2. Kochhar SP, Rossel JB, Hudson BJF. (editor). Food antioxidants. 1990. Elsevier Science.
3. http://codexindonesia.bsn.go.id/uploads/download/UU_Pangan_No.18_.pdf. retrieved 26 Mei 2013.

4. <http://jdih.pom.go.id/produk/peraturan%20menteri/Permenkes%20ttg%20BTP.pdf>. retrieved 26 Mei 2013.
5. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49(11): 5165–5170.
6. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shaha-bimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Technology.* 2006; 5(11): 1142-1145.
7. Madhavi, DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. Food antioxidants: technological: toxicological and health perspectives. 1996. New York. Marcel Dekker.
8. Cadenas E. Basic mechanism of antioxidant activity. *Biofactor.* 1997. 6: 391-397.
9. Cacic M, Molnar M, Sarkanj B, Has-Schon E, Rajkovic V. Synthesis and antioxidant activity of some new coumarinyl- 1,3-thiazolidine-4-ones. *Molecules.* 2010; 15: 6795-6809.
10. Buck DF. Food additive User's Handbook. 1991. Springer.
11. Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. Butylated hydroxyanisole (BHA; tert-butyl-4-hydroxyanisole) and butylated hydroxytoluene (BHT; 2,6-di-tert-butyl-p-cresol) in food anti-oxidants: Technological, Toxicological, and health perspectives. 1996.
12. Han SS, Lo SC, Choi YW, Kim JH, Beck SH. Antioxidant activity of crude extract and pure compounds of *Acer ginnala* max. *Bull. Korean. Chem Soc.* 2004; 25(3): 389-391.
13. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~uxBaWC:1>. Butylated hydroxyanisole (BHA). CAS No. 25013-16-5, Report on carcinogens, Eleventh Edition, National Institutes of Health. Retrieved 26 Juni 2013.
14. Lam LK, Pai RP, Wattenberg, LW. Synthesis and chemical carcinogen inhibitory activity of 2-tert-butyl-4-hydroxyanisole. *J Med Chem.* 1979; 22 (5): 569–71.
15. Clegg DJ. Absence of teratogenic effect of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in rats and mice. *Food and cosmetics toxicology.* 1965; 3:387-403
16. Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food Chem Toxicol.* 1999. 37(9-10): 1027-1038.
17. Known carcinogens and reproductive toxicants (California Proposition 65). Scorecard. Retrieved. 2011-05-29.
18. Botterweck, AAM, Vergaen H, GoldBohm RA, KleinJans J, and van den Brant PA. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. *Food and Chemical Toxicology.* 2007. 38 (7): 599–605.
19. Salimath B.P, Sundaresh C.S, Srinivas L. Dietary components inhibit lipid peroxidation in erythrocyte membrane. *Nutrition Research.* 1986. 6 (10): 1171-1178.
20. Moleyar V, Narasimham P. Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology.* 1992. 16 (4): 337-342.
21. Conning, DM., Phillips, JC. Comparative metabolism of BHA, BHT and other phenolic antioxidants and its toxicological relevance. *Food Chem Toxicol.* 1986. 24(10-11): 1145-8.
22. Abiko, Y, Miura T, Phuc, BH., Shinkai Y, Kumagai Y. Participation of covalent modification of Keap1 in the activation of Nrf2 by tert-butylbenzoquinone, an electrophilic metabolite of butylated hydroxyanisole. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2011. 255(1): 32-39.
23. Hazardous Substances Database, National Library of Medicine
24. Miranda CL, Reed RL, Cheeke PR, Buhler DR. Protective effects of BHA against the acute toxicity of monocrotaline in mice. *Toxicology and applied pharmacology.* 1981. 59: 424-430.
25. Schultze AE, Roth RA. Chronic pulmonary hypertension the monocrotaline model and involvement of the hemostatic system. *Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 1998; 1(4): 271-346.
26. Ito N, Fukushima S, Hagiwara, A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl Cancer Inst.* 1983; 70(2): 343-352.
27. Verhagen H, Beckers HH, Comuth, PA, Maas, LM, ten Hoor F, Henderson, PT Kleinjans, JC. Disposition of single oral doses of butylated hydroxytoluene in man and rat. *Food Chem Toxicol.* 1989; 27(12): 765-72.
28. Verhagen, H, Deerenberg I, Marx A, ten Hoor F, Henderson PT, Kleinjans, JC. Estimate of the maximal daily dietary intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in The Netherlands. *Food Chem Toxicol.* 1990; 28(4): 215-20.

29. <http://www.ratbehavior.org/vomit.htm>. Why rats can't vomit. retrieved 26 Mei 2013.
30. deStafney CM., Prabhu UD, Sparnins VL., Wattenberg, LW. Studies related to the mechanism of 3-BHA-induced neoplasia of the rat forestomach. Food Chem Toxicol. 1986; 24(10-11): 1149-57.
31. Williams, GM. Epigenetic promoting effects of butylated hydroxyanisole. Food Chem Toxicol. 1986; 24(10-11): 1163-1166.
32. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm?rpt=scogsListing&id=40>. retrieved 26 Mei 2013.