

# Kadar SGOT dan SGPT Setelah Pemberian Serbuk Pewarna dari Pigmen Selaput Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana*) Studi Eksperimental pada Mencit Putih Galur Balb/C

## *The Level of SGOT and SGPT after The Administration of Powdered Colorant Pigment Isolated from Kesumba Keling's (*Bixa Orellana*) Seed Coats*

### *An experimental study in Balb/C Mice*

Suparmi<sup>1\*</sup>, Israhnanto Isradji<sup>1</sup>, dan Dina Fatmawati<sup>1</sup>

#### **ABSTRACT**

**Background:** There has been an effort to explore pigment from kesumba keling's (*Bixa orellana*) seed coats for a source of natural food colorant. Consumption of pigment from kesumba keling (*Bixa orellana*) was assumed to cause adverse effects on heart as an important organ in detoxification or inactivation of drugs or other toxic compounds. This study conducted to determine the levels of SGOT and SGPT blood serum of mice (*Mus musculus*) Balb/C after administration of colorant powder pigment of *B. orellana* seed coat's at various concentrations.

**Design and Methods:** The research is an experimental research with Factorial Design with 2 factors. Food Colorant Powder was made from bixin, norbixin, and crude extract pigment isolated from *B. orellana* seed coat's. A total of 60 male mice were divided into 10 treatment groups. Powdered colorant solution at the concentration of 0% (control), 1%, 5%, and 10% were orally administered using gavage as much as 1 ml a day for 30 days.

**Results:** Kruskal Wallis test results shows a not significant difference SGOT and SGPT level among the groups ( $p > 0.05$ ), thus consumption of colorant powder of bixin, norbixin, and the crude extract with various concentrations did not affect the SGOT and SGPT.

**Conclusion:** Colorant powder isolated from *B. orellana* seed coat's has been shown to have no effect on the liver function, so it is safe as food colorant (*Sains Medika*, 3(1):69-77).

**Key words:** *Bixa orellana*, bixin, crude extract, norbixin, SGOT, SGPT

#### **ABSTRAK**

**Latar belakang:** Upaya pemanfaatan pigmen dari selaput biji kesumba keling (*Bixa orellana*) sebagai sumber bahan pewarna alami, menjadi salah satu alternatif solusi permasalahan penggunaan pewarna sintetik. Konsumsi pigmen selaput biji *B. orellana* diduga akan menimbulkan efek samping pada tubuh, salah satunya hati sebagai organ yang penting dalam detoksifikasi atau inaktivasi obat atau senyawa beracun lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar enzim SGOT dan SGPT serum darah mencit (*Mus musculus*) Balb/C setelah pemberian serbuk pewarna pigmen dari selaput biji kesumba keling (*Bixa orellana*) pada berbagai variasi konsentrasi.

**Metode:** Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental, dengan rancangan faktorial yang terdiri 2 faktor perlakuan. Serbuk pewarna dibuat dari pigmen ekstrak kasar, bixin, dan norbixin yang diisolasi dari selaput biji *B. orellana*. Sejumlah 60 ekor mencit jantan dikelompokkan menjadi 10 kelompok perlakuan yang diberi larutan serbuk pewarna konsentrasi 0% (kontrol); 1%, 5%; dan 10%. Pemberian campuran pigmen dilakukan secara per oral dengan menggunakan gavage sebanyak 1 ml/ekor/hari selama 30 hari.

**Hasil:** Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan baik kadar SGOT maupun SGPT pada beberapa kelompok perlakuan tidak berbeda secara signifikan ( $p > 0,05$ ), sehingga pemberian serbuk pewarna bixin, norbixin, dan ekstrak kasar dengan berbagai konsentrasi tidak mempengaruhi kadar enzim SGPT maupun SGOT.

**Kesimpulan:** Serbuk pewarna dari pigmen selaput biji *B. orellana* tidak mempengaruhi fungsi hati, sehingga aman sebagai pewarna makanan (*Sains Medika*, 3(1):69-77).

**Kata kunci:** *Bixa orellana* L. bixin, ekstrak kasar, norbixin, SGOT, SGPT

1 Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA)

\* Email: amik\_achsy@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Perkembangan industri makanan, obat, dan kosmetik akhir-akhir ini menuntut penggunaan bahan pewarna yang semakin meningkat terutama bahan pewarna sintetik, mengingat harga bahan pewarna sintetik lebih murah dan bersifat lebih stabil dibandingkan dengan pewarna alami. Di sisi lain, penggunaan bahan pewarna sintetik dapat membahayakan kesehatan konsumen, seperti menyebabkan toksik dan karsinogenik.

Hasil kajian Badan Perlindungan Konsumen Nasional (BPKN) menunjukkan bahwa kejadian luar biasa (KLB) keracunan makanan dari tahun 2001-2006 mengalami peningkatan, baik jumlah kejadian maupun jumlah korban sakit dan meninggal. Penyalahgunaan pewarna makanan sintetik diantaranya Rodhamin B dan Amaranth menyumbang masing-masing 10,4% dan 1,9% dari 89,8% kasus penyalahgunaan bahan tambahan pangan (BTP) berbahaya (Mambo, 2007). Goyle dan Gupte (1998 *dalam* Rao *et al.*, 2004) melaporkan bahwa penggunaan pewarna sintesis yang berlebihan dapat menimbulkan berbagai macam gangguan kesehatan, diantaranya keracunan, gangguan pada pencernaan, otak, limpa, ginjal, hati, tumor, kanker, lumpuh, keterbelakangan (retardasi), serta kebutaan. Realita ini sekaligus membuka peluang besar untuk menggali dan memanfaatkan pigmen pada tanaman sebagai bahan pewarna alami dalam industri makanan dan farmasi.

*Bixa orellana* atau di Jawa Tengah populer disebut kesumba keling merupakan salah satu tanaman yang telah lama dikenal dan digunakan oleh sebagian besar masyarakat Indonesia untuk pengobatan dan kesehatan. Akhir-akhir ini *B. orellana* (di Inggris dan Amerika Serikat disebut annatto) disadari sebagai penghasil bahan pewarna alami yang penting secara ekonomis nomor dua di dunia, setelah karamel. Bagian tanaman *B. orellana* yang sering dimanfaatkan sebagai pewarna alami adalah selaput bijinya. Suparmi *et al.*, (2008) melaporkan bahwa selaput biji *B. orellana* mengandung pigmen utama dari golongan di-apo karotenoid dengan komposisi bixin ( $C_{25}H_{30}O_4$ ) sebesar  $83,41 \pm 4,54\%$  dan norbixin ( $C_{24}H_{28}O_4$ ) sebesar  $19,19 \pm 1,56\%$ , sebagai komponen minor. Pigmen ini telah dimanfaatkan sebagai pewarna makanan, obat, kosmetik, dan tekstil di banyak negara. Akan tetapi, pemanfaatan pigmen alami dari *B. orellana* di Indonesia terbatas pada industri tekstil terutama sebagai pewarna batik dan tenun, sedangkan aplikasi

dalam industri makanan dan farmasi belum banyak dikembangkan.

Potensi pigmen bixin pada selaput biji *B. orellana* sebagai pewarna alami makanan, didukung oleh banyak hasil penelitian yang mengungkapkan bahwa bixin memiliki sifat antioksidan, antigenotoksik, antikarsinogenik, anti jamur, dan anti inflamatori, sehingga diharapkan bermanfaat bagi kesehatan tubuh (Taylor, 2005; Júnior *et al.*, 2005; Kurniawati *et al.*, 2007). Taylor (2005) melaporkan bahwa pigmen bixin dari tanaman ini dapat berperan sebagai pelindung hati, penolak serangga, perawatan kulit, mengobati kolesterol tinggi, dan mengobati tekanan darah tinggi. Akan tetapi, agar semua efek farmakologis pigmen bixin dan norbixin dapat diperoleh tanpa menimbulkan efek keracunan pada manusia yang mengkonsumsinya, perlu diperhatikan efek toksistas dari pigmen tersebut, salah satunya dengan melihat fungsi hati.

Hati merupakan organ penting dalam proses metabolisme, detoksifikasi maupun inaktivasi obat atau senyawa beracun lainnya seperti radikal bebas, sehingga dapat dikatakan hati mempunyai fungsi pertahanan dan pelindung bagi tubuh (Wyngaarden, 1982 *dalam* Linawati *et al.*, 2008). Peningkatan paparan berbagai polutan maupun senyawa beracun pada tubuh dapat menyebabkan meningkatnya risiko kerusakan hati. Salah satu manifestasi kerusakan jaringan pada hati dapat diamati dari peningkatan kadar SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transferase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Peptidil Transferase*). Oleh karena itu, untuk memastikan keamanan mengonsumsi makanan dengan pewarna pigmen pada selaput biji kesumba keling, perlu dilakukan uji mengenai efek samping pigmen tersebut terhadap organ hati, dengan mengukur kadar enzim SGPT maupun SGOT. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar enzim SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) Balb/C setelah pemberian serbuk pigmen dari selaput biji kesumba keling (*Bixa orellana*) pada berbagai variasi konsentrasi.

Hasil pengukuran kadar SGOT dan SGPT diharapkan dapat memberikan gambaran tingkat keamanan mengonsumsi pigmen dari selaput biji kesumba keling (*Bixa orellana*) sebagai pewarna alami dalam industri makanan dan farmasi (Rahardjo & Nurhayati, 2008). Data yang diperoleh akan dikembangkan dalam studi lanjut pemanfaatan pigmen selaput biji *Bixa orellana* sebagai pewarna alami makanan, obat, dan kosmetik yang aman bagi kesehatan manusia.

## METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental, dengan rancangan faktorial yang terdiri 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah jenis pigmen yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu ekstrak kasar, bixin, dan norbixin. Faktor kedua adalah konsentrasi pigmen yang terdiri dari 4 taraf perlakuan yaitu konsentrasi 0% (sebagai kontrol); 1%, 5%; dan 10%. Perlakuan diulang sebanyak 5 kali ulangan.

Sampel yang digunakan adalah biji kesumba keling (*Bixa orellana*) yang diambil dari daerah Salatiga. Hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih (*Mus musculus*) galur BALB/c usia sekitar 2 bulan dengan bobot 30 g jantan yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

### Pembuatan Serbuk Pewarna dari Pigmen Selaput Biji *B. orellana*

Pigmen yang digunakan dalam penelitian adalah pigmen ekstrak kasar, bixin dan norbixin. Ekstrak kasar diperoleh dari hasil ekstraksi biji kesumba (*Bixa orellana*) menggunakan pelarut aseton. Pigmen bixin diperoleh dari kromatografi kolom ekstrak kasar menggunakan fase diam silika gel Si-60 dan fase gerak aseton : heksana (1 : 2<sup>v/v</sup>) (Kurniawati *et al.*, 2007). Norbixin diperoleh dengan cara hidrolisis ekstrak kasar menggunakan larutan NaOH 0,1 M, pada suhu 70 °C selama 1 jam, kemudian didinginkan. Hasil hidrolisis ditambah HCl 0,1 N untuk mengendapkan norbixin, endapan yang terbentuk kemudian disaring. Filtrat dicuci dengan aquades berkali-kali untuk menghilangkan sisa HCl. Pigmen yang diperoleh selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, disimpan ke dalam botol sampel dan dikeringkan dengan menggunakan gas N<sub>2</sub> (Britton *et al.*, 1995; Kurniawati *et al.*, 2007; Suparmi *et al.*, 2007; Suparmi *et al.*, 2008).

Pembuatan serbuk pigmen untuk pewarna makanan mengacu pada metode enkapsulasi pigmen bixin menurut Barbosa *et al.*, (2005) yaitu menggunakan bahan enkapsulasi, yang terdiri dari 99,8 % larutan maltodextrin dan 0,2% Tween 80. Serbuk maltodextrin dilarutkan dalam 180 ml aquades pada suhu 60 °C dan dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* sampai mencapai suhu 30 °C, kemudian ditambahkan Tween 80. Bahan enkapsulasi yang sudah dipersiapkan kemudian ditambah 0,04 g pigmen dalam 20 ml etanol, sampai total padatan terlarut mencapai 40%. Campuran tersebut selanjutnya dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit dan

dikeringkan. Proses pengeringan pigmen terkapsulasi untuk menghasilkan serbuk pewarna mengacu pada metode Lukiaty & Nugrahaningsih (2003) melalui pengeringan di dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam, selanjutnya digrinder menggunakan mortar untuk menghaluskan serbuk yang terbentuk.

### **Perlakuan Serbuk Pigmen terhadap Hewan Uji**

Perlakuan menggunakan 60 ekor mencit jantan Swiss Webster yang diaklimasi di laboratorium selama 1 minggu. Mencit ditempatkan dalam bak plastik beralas sekam padi dengan tutup jeruji pada ruangan bersuhu 25-30 °C dan kelembaban ruangan 50-60 %. Pakan berupa pelet anak ayam CP 12 dan minuman dari air ledeng, masing-masing diberikan secara *ad libitum*.

Mencit sebanyak 60 ekor dibagi menjadi 10 kelompok perlakuan, yaitu 1 kelompok kontrol (tidak diberi serbuk pewarna); 9 kelompok diberi pewarna dari ekstrak kasar, bixin, dan norbixin masing-masing dengan konsentrasi 1%, 5%, dan 10%. Serbuk pewarna pigmen selaput biji kesumba keling (*B. orellana*) yang terdiri dari ekstrak kasar, bixin, dan norbixin masing-masing diberikan dalam bentuk campuran serbuk pewarna dan air. Pemberian campuran pigmen dilakukan secara *per oral* dengan menggunakan *gavage* sebanyak 1 ml/ekor/hari selama 30 hari. Untuk mencit kontrol hanya diberikan aquades dengan dosis dan cara pemberian yang sama seperti yang diberi perlakuan campuran serbuk pewarna.

Pada akhir perlakuan (setelah 30 hari) mencit diambil darahnya pada sinus orbita untuk penentuan variabel SGOT dan SGPT. Kadar enzim SGOT dan SGPT pada serum darah mencit diukur dengan menggunakan spektrofotometer dan dinyatakan dalam satuan  $\mu$ /dl. Pengukuran kadar SGOT dan SGPT dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, Semarang. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kruskal Wallis menggunakan *software* SPSS 14.

### **HASIL**

Rerata kadar SGPT dan SGOT pada tiap kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji normalitas menunjukkan data rerata kadar SGOT dan SGPT tidak terdistribusi secara normal ( $p > 0,05$ ), sehingga data diolah secara non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis

menunjukkan baik kadar SGOT maupun SGPT pada beberapa kelompok perlakuan dengan kontrol tidak berbeda secara signifikan ( $p > 0,05$ ).

Tabel 1. Rerata kadar SGPT dan SGOT mencit pada beberapa perlakuan dengan berbagai konsentrasi

Kelompok perlakuan	Rerata ± Standart Deviasi	
	SGPT ( $\mu$ /l)	SGOT ( $\mu$ /l)
kontrol	69,85 ± 15,87	231,57 ± 109,15
ekstrak kasar 1%	101,8 ± 49,09	231,4 ± 64,15
ekstrak kasar 5%	96,72 ± 92,26	212,25 ± 85,41
ekstrak kasar 10%	72,37 ± 25,99	154,37 ± 34,35
bixin 1%	83,42 ± 32,35	282,1 ± 48,75
bixin 5%	83,4 ± 82,38	283,77 ± 41,62
bixin 10%	89,26 ± 14,81	224,40 ± 86,63
norbixin 1%	135,72 ± 106,78	230,12 ± 127,01
norbixin 5%	120,72 ± 77,73	257,52 ± 55,28
norbixin 10%	129,27 ± 41,35	243,75 ± 69,82

## PEMBAHASAN

Serum transaminase merupakan indikator yang peka terhadap kerusakan sel-sel hepar (Sherlock, 1995). Pemberian serbuk pewarna dari ekstrak kasar pigmen, bixin, dan norbixin dari selaput biji kesumba keling (*Bixa Orellana*) dengan berbagai konsentrasi tidak mempengaruhi kadar enzim SGPT maupun SGOT. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga serbuk pewarna tersebut tidak menyebabkan toksisitas pada hepar. Ditinjau dari kajian toksikologi, bahan yang berbahaya adalah suatu bahan (baik alami atau sintesis, organik maupun anorganik) yang karena komposisinya dalam keadaan, jumlah, dosis dan bentuk tertentu dapat mempengaruhi fungsi organ tubuh manusia atau hewan sedemikian sehingga mengganggu kesehatan baik sementara, tetap atau sampai menyebabkan kematian (Katno dan Pramono, 2006).

Hasil tersebut sejalan dengan hasil pengujian tingkat keamanan mengonsumsi makanan dengan pewarna pigmen pada selaput biji *B. orellana* yang diberikan pada babi yang diberi pakan dengan kandungan bixin 400 mg/kgBB selama 21 hari. Berdasarkan pengamatan mikroskopik histopatologi tidak ditemukan adanya kerusakan pada struktur hati, jantung, ginjal, limpa, dan pembuluh darah. Hasil ini didukung oleh

Fernandes *et al.*, (2002) yang melaporkan bahwa analisa histopatologi hati dan ginjal pada mencit yang diberi norbixin murni selama 21 hari dengan dosis 0,8; 7,6; 66 dan 274 mg/kgBB tidak ditemukan kerusakan pita DNA pada hati maupun ginjal.

Pemanfaatan bixin dan norbixin sebagai pewarna alami makanan terbukti lebih aman dibandingkan dengan pewarna sintetis. Pigmen ekstrak kesumba sebagai pewarna makanan tidak terakumulasi di jaringan tubuh. Uji toksisitas jangka panjang ekstrak kesumba dengan komponen utama bixin 0.2-2.6% selama 1 tahun terbukti tidak menyebabkan akumulasi pigmen dalam jaringan. Pigmen dalam ekstrak kesumba diabsorpsi ke dalam usus halus kemudian menuju ke darah dan langsung dibersihkan dengan cepat.

Adapun kelebihan ekstrak kesumba sebagai pewarna makanan dibandingkan dengan pewarna sintetis, diketahui berdasarkan analisa aktivitas enzim yang berperan dalam sintesis RNA dan DNA. Penelitian tersebut dilakukan pada tikus jantan strain albino yang diberi pakan dengan pewarna ekstrak kesumba dosis 80 mg/kgBB selama 3 minggu dan dibandingkan dengan pemberian pewarna sintetis tartazin, carmoisin, dan *sunset yellow*. Pada akhir perlakuan dilakukan isolasi sitoplasma dan mitokondria dari otak, hati dan jantung. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak kesumba terhadap aktivitas enzim glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) dan phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD) lebih kecil dibandingkan dengan pengaruh pewarna sintetis. Perbedaan pengaruh ini terlihat besar pada aktivitas enzim di hati (Hagiwara *et al.*, 2003).

## **KESIMPULAN**

Pemberian serbuk pewarna bixin, norbixin, dan ekstrak kasar dengan berbagai konsentrasi tidak mempengaruhi kadar enzim SGPT maupun SGOT, sehingga aman sebagai pewarna makanan.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penelitian ini didukung oleh dana penelitian dari Kopertis Wilayah VI Kementerian Pendidikan Nasional sesuai Surat Perjanjian Penelitian Dosen Muda dan Studi Kajian Wanita Nomor: 002/006.2/PP/SP/2010, tanggal 01 Maret 2010.

## DAFTAR PUSTAKA

- Barbosa, M.I.M.J., Borsarelli, C.D., and Mercadante, A.Z., 2005, Light Stability of Spray-Dried Bixin Encapsulated With Different Edible Polysaccharide Preparations, *Food Research International* 38 (2005) 989–994, [www.elsevier.com/locate/foodres](http://www.elsevier.com/locate/foodres).
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S. dan Pfander, H., 1995, *Carotenoids Volume 1A: Isolation and analysis*, Birkäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.
- Fernandes, A.C.S., Almeida, C.A., Albana, F., Laranja, G.A.T., Felzenszwalb, I., Lage, C.L.S., de Sa, C.C.N.F., Moura, A.S. & Kovary, K., 2002, Norbixin ingestion did not induce any detectable DNA breakage in liver and kidney but caused a considerable impairment in plasma glucose levels of rats and mice, *J. Nutr. Biochem.*, 13, 411–420.
- Hagiwara A., Imai N., Ichihara T., Sano M., Tamano S., Aoki H., Yasuhara K., Koda T. , Nakamura M., Shirai T., 2003, A Thirteen-Week Oral Toxicity Study of Annatto Extract (Norbixin), A Natural Food Colour Extracted from The Seed Coat of Annatto (*Bixa Orellana* L.), in Sprague-Dawley Rats, [Abstract], *Food and chemical toxicology (Food chem. toxicol)* Vol. 41, No. 8, pp. 1157-1164.
- Júnior, A.C.T.S., L.M.B.O. Asad, E.B. de Oliveira, K. Kovary, N.R. Asad, and I. Felzenszwalb., 2005, Antigenotoxic and Antimutagenic Potential of an Annatto Pigment (Norbixin) Against Oxidative Stress, *Genetics and Molecular Research* 4 (1): 94-99.
- Katno dan Pramono, S., 2006, *Tingkat Manfaat Dan Keamanan Tumbuhan Obat Dan Obat Tradisional*, Balai Penelitian Tumbuhan Obat Tawangmangu.
- Kurniawati, P., H. Soetjipto, dan Limantara, L., 2007, Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Pigmen Bixin Selaput Biji Kesumba (*Bixa orellana* L.), Salatiga: *Skripsi*, Universitas Kristen Satya Wacana.
- Linawati, Y., A.Apriyanto, E. Susanti, I. Wijayanti, dan I.A. Donatus, 2008, Efek Hepatoprotektif Rebusan Herba Putri-malu (*Mimosa pigra* L.) Pada Tikus Terangsang Parasetamol, [http://www.usd.ac.id/06/publ\\_dosen/far/yunita.pdf](http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/yunita.pdf). Diakses tanggal 17.04.2009.
- Lukiati, B and Nugrahaningsih, 2003, The Effect of Alcohol Concentration to Caroten Content in Kesumba (*Bixa orellana* L.) Seed as Food Colouring, Abstrak. [http://www.malang.ac.id/jurnal/fmipa/chim/2003a.htm#1\\_2](http://www.malang.ac.id/jurnal/fmipa/chim/2003a.htm#1_2), Diakses tanggal 08.03.2007.
- Mambo, 2007, *Hasil Kajian BPKN di Bidang Pangan Terkait Perlindungan Konsumen*, <http://www.indonesia.go.id-REPUBLIK INDONESIA>, Diakses tanggal 23.08.2010.
- Rahardjo, T. dan S. Nurhayati, 2008, Studi Toksisitas Dekontaminan Prussian Blue pada Kera Ekor Panjang *Macaca fascicularis*, Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi BATAN, <http://nhc.batan.go.id/dokumen/tur2.pdf>. Diakses tanggal 20.04.2009.
- Rao, P.G.P., Jyothirmayi, T., Balaswamy, K., Satyanarayana, A., and Rao, D.G., 2004, Effect of Processing Conditions on The Stability of Annatto (*Bixa Orellana* L.) Dye Incorporated Into Some Foods, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* [www.elsevier.com/locate/lwt](http://www.elsevier.com/locate/lwt).

- Sherlock, S., 1995, *Penyakit hati dan sistem saluran empedu*, Widya Medika, Ed.2, Jakarta.
- Suparmi, B. Prasetyo, dan L. Limantara, 2007, Fotodegradasi Pigmen Bixin Dari Biji Kesumba (*Bixa orellana* L.): Potensinya Sebagai Pewarna Alami Makanan, Prosiding Seminar Nasional Pigmen 2007 'Back to Nature dengan Pigmen Alami', UKSW Salatiga, B(05): 195-204.
- Suparmi, B. Prasetyo. and L. Limantara, 2008, Stability Characterization of Norbixin Pigment from *Kesumba keling keling* (*Bixa orellana* L.) Seeds, *Proceeding of 8<sup>th</sup> National Student Conference 'Smart Food: Lifestyle and Health Reconciled'*. Soegijapranata Catholic University. Semarang.
- Taylor, 2005, Annatto (*Bixa Orellana* L.). <http://www.raintree.com/annatto.htm>. Dikutip tgl 25.09.2008.