

Disubmit 10 Desember 2021

Diterima 24 September 2021

PENGARUH PEMBERIAN VARIASI KONSENTRASI BIOTIN TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL DAN KOLESTEROL LDL PADA TIKUS DENGAN RESIKO DISLIPIDEMIA

THE EFFECT OF GIVING VARIANT BIOTIN CONCENTRATION ON TOTAL CHOLESTEROL AND LDL CHOLESTEROL LEVELS IN RAT WITH DYSLIPIDEMIA

Anak Agung Ayu Eka Cahyani¹, Budi Santosa², Ana Hidayati Mukaromah³

Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis. Universitas Muhammadiyah Semarang

ABSTRAK

Dislipidemia dapat menyebabkan aterosklerosis sehingga risiko penyakit jantung koroner, penyakit kardiovaskular atau *Cardiovascular Disease* (CVD) dan stroke meningkat. Kolesterol LDL diketahui terlibat dalam tahapan perkembangan lesi awal aterosklerosis. Pemberian suplemen seperti penambahan biotin perlu diberikan untuk menjaga kadar lipid dalam darah. Biotin disebut juga vitamin B7 atau vitamin H yaitu vitamin larut dalam air, bertindak sebagai kelompok prostetik karboksilase dalam beberapa jalur metabolisme. Biotin dinyatakan vitamin yang aman, asupan dengan kadar 300 kali lipat dari normal terbukti tidak beracun. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian variasi konsentrasi biotin terhadap kadar kolesterol total dan kolesterol LDL pada tikus wistar dengan resiko dislipidemia. Tikus wistar jantan usia 8 minggu dengan berat awal 150-200 gram diadaptasi selama 7 hari, diberi pakan standar dan air minum *ad libitum*. Sampel setelah adaptasi, dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberikan pakan standar, kelompok kontrol positif diberikan pakan dengan diet tinggi lemak. Kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 diberi pakan diet tinggi lemak dan dosis biotin berturut-turut 1,232 mg/kg; 68,39 mg/kg dan 97,72 mg/kg selama 6 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada hasil pemeriksaan kolesterol total dan kolesterol LDL dengan uji *One Way ANOVA* ($p \leq 0,05$). Simpulan ada pengaruh pemberian variasi konsentrasi biotin terhadap kadar kolesterol total dan kolesterol LDL pada tikus wistar dengan resiko dislipidemia.

Kata Kunci: Biotin, Dislipidemia, Kolesterol LDL, Kolesterol Total

ABSTRACT

Dyslipidemia can cause atherosclerosis so that the risk of coronary heart disease, cardiovascular disease (CVD) and stroke increases. LDL cholesterol involved in the

developmental stages of the early atherosclerosis lesions. Supplementation of biotin needs to be given to maintain lipid levels in the blood. Biotin, also called vitamin B7 or vitamin H, is a water soluble vitamin, acting as a prosthetic carboxylase group in several metabolic pathways. Biotin is declared a safe vitamin, intake with levels 300 times than normal level is proven to be non-toxic. This research was conducted to see the effect of varying the concentration of biotin on total cholesterol and LDL cholesterol levels in Wistar rats with a risk of dyslipidemia. Eight-week-old male Wistar rats with an initial weight of 150-200 grams were adapted for 7 days, given standard feed and drinking water ad libitum. Samples after adaptation were divided into 5 groups. The negative control group was given standard feed, the positive control group was given feed with a high-fat diet. Treatment groups 1, 2 and 3 were given a high-fat diet and a dose of biotin 1.232 mg/kg; 68.39 mg/kg and 97.72 mg/kg over a periode of 6 weeks. The results showed that there was a significant difference in the results of total cholesterol and LDL cholesterol with the One Way ANOVA test ($p \leq 0.05$). In conclusion, there is an effect of giving biotin variant concentration on total cholesterol and LDL cholesterol levels in rat with a risk of dyslipidemia.

Keywords: Biotin, Dyslipidemia, LDL Cholesterol, Total Cholesterol.

Alamat Korespondensi : Universitas Muhammadiyah Semarang, Indonesia

Email : ekacahyanii@gmail.com

PENDAHULUAN

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid akibat interaksi faktor genetik dan faktor lingkungan yang ditunjukkan dengan hasil pemeriksaan profil lipid di luar *borderline*. Parameter pemeriksaan profil lipid yang menjadi penanda dislipidemia antara lain meningkatnya kadar kolesterol total dan kolesterol LDL (*low-density lipoprotein*) (Ontario, 2014; Garg, 2015 & Kwiterovich, 2010). Dislipidemia dapat menyebabkan aterosklerosis sehingga risiko penyakit jantung koroner, penyakit kardiovaskular atau *Cardiovascular Disease* (CVD) dan stroke meningkat (Anneke et al., 2018 & Kopin et al., 2013). Pada tahun 2016 diperkirakan 17,9 juta orang meninggal karena CVD, mewakili 31% dari total kematian global (WHO, 2017). Kolesterol LDL diketahui terlibat dalam tahapan perkembangan lesi awal aterosklerosis yaitu pembentukan *foam cell* (sel busa) (Chistiakov et al., 2017 & Maramis et al., 2014).

Laporan Riset Kesehatan Dasar Kementerian RI (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan bahwa 28,8% dari seluruh penduduk di Indonesia memiliki kadar kolesterol total meningkat yang diperoleh dari gabungan penduduk kategori *borderline* (nilai kolesterol total 200-239 mg/dl) dan tinggi (nilai kolesterol total >240 mg/dl). Usaha-usaha yang dapat dilakukan dalam mencegah dislipidemia antara lain mengurangi asupan asam lemak jenuh, meningkatkan asupan serat, mengurangi asupan karbohidrat dan alkohol, meningkatkan aktivitas fisik sehari-hari, mengurangi berat badan berlebih serta menghentikan kebiasaan merokok (PERKI, 2013). Satuan Tugas Pelayanan Preventif Amerika Serikat (*The U.S.*

Preventive Services Task Force) menunjukkan modifikasi gaya hidup, seperti diet dan aktivitas fisik, tidak dapat mengurangi kadar lipid secara substansial.

Pemberian suplemen tambahan seperti penambahan biotin perlu diberikan untuk menjaga kadar lipid dalam darah (Asvini et al., 2016). Biotin disebut juga dengan vitamin B7 atau vitamin H yaitu vitamin larut dalam air (Depkes, 1979) yang bertindak sebagai kelompok prostetik karboksilase dalam beberapa jalur metabolisme (Patel et al., 2017). Menurut Ardabilygazir (2018), biotin adalah kofaktor enzyme karboksilase yang terlibat dalam sintesis asam lemak dan produksi energi (Ardabilygazir et al., 2018). *Food and Nutrition Board (1998)* memberikan referensi asupan vitamin harian untuk orang dewasa yaitu 30 ug dan meningkat pada ibu menyusui yaitu 35 ug. Biotin dinyatakan vitamin yang aman dan asupan dengan kadar 300 kali lipat dari normal terbukti tidak beracun (Asvini et al., 2018 & Said, 2011). Biotin secara alami dapat ditemukan dalam makanan antara lain kacang almond, kacang-kacangan, biji-bijian, nasi beras merah, dan kuning telur (Patel et al., 2017).

Biotin mampu menurunkan kadar TG dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) dalam plasma darah pada pasien diabetes tipe 2 dan non diabetes dengan hipertrigliseridemia (Revilla-Monsalve et al., 2006). Kombinasi obat Atorvastatin dan biotin bagi pasien dislipidemia menunjukkan hasil penurunan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida (Asvini et al., 2018). Pasien dengan dislipidemia sekunder yang telah mengonsumsi Atorvastatin secara rutin 20mg/hari diberikan tambahan biotin menunjukkan hasil baik pada rasio kolesterol total : kolesterol HDL ≤ 3.5 pada minggu ke-empat dan ke-enam (Asvini et al., 2016). Biotin yang digunakan dalam bentuk tablet dengan dosis 5 mg (Asvini et al., 2018; Revilla-Monsalve et al. 2006 & Asvini et al., 2016).

Dalam Larrieta (2010) ditemukan bahwa biotin menjadi agen yang secara signifikan menurunkan kadar fosfolipid pada tikus. Biotin telah diujicobakan pada tikus sehat dengan dosis 97.7 mg/kg diet menurunkan kadar serum TG hingga 35% dan ekspresi gen lipogenik. Aguilera-Mendez (2012) melakukan analisa *signaling pathways* dan mekanisme post-transkripsi yang terlibat dalam efek hipotrigliseridemia biotin dimana konsentrasi trigliserida serum dan hati menurun setelah penelitian. Penelitian lain menggunakan tikus dengan dosis serupa diketahui dapat menurunkan kadar asam lemak bebas namun tidak berpengaruh pada lipolisis, terjadi penurunan sintesis asam lemak, peningkatan oksidasi dan penyerapannya (Boone-Villa et al., 2015 & Moreno-Méndez et al., 2019).

Pemberian biotin sebagai suplemen pada tikus wistar dipertimbangkan sebagai langkah preventif terhindar dari dislipidemia. Diet tinggi lemak yang mengandung lemak babi diberikan pada tikus wistar dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total dan LDL hingga terbentuk sel busa. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian variasi konsentrasi biotin terhadap kadar kolesterol total dan kolesterol LDL pada tikus wistar dengan resiko dislipidemia. Variasi konsentrasi biotin mengacu pada penelitian sebelumnya (Larrieta et al., 2010; Boone-Villa et al., 2015; Aguilera-Méndez et al., 2012 & Moreno-Méndez et al., 2019) baru dapat menurunkan kadar TG hingga 35% pada mencit (Larrieta et al., 2010) sehingga penelitian ini konsentrasi biotin dinaikkan dengan harapan hasil lebih baik dengan konversi dosis hewan coba.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Universitas Muhammadiyah Semarang. Pengukuran kadar kolesterol total dan kolesterol LDL serum dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Usulan penelitian telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang No: 382/KEPK-FKM/UNIMUS/2020. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-September tahun 2020. Penelitian berjenis *experimental* dengan *Post Randomized Controlled Group Design* terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, 3 kelompok uji. Penentuan besar sampel menggunakan ketentuan WHO (2001), jumlah minimal sampel per kelompok adalah 5 ekor tikus. Pada setiap kelompok ditambah satu ekor tikus sehingga didapatkan total besar sampel sebanyak 30 ekor tikus. Metode pemilihan sampel menggunakan *simple random sampling* dimana dilakukan secara acak tanpa melihat strata pada populasi.

Tikus wistar jantan usia 8 minggu dengan berat awal 150-200 gram diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, diberi pakan standar dan air minum ad libitum. Sampel setelah dilakukan adaptasi, dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberikan pakan standar, kelompok kontrol positif diberikan pakan dengan diet tinggi lemak dan air minum. Diet tinggi lemak untuk pakan dibuat dengan mencampurkan 1000 gram pakan ayam AD II dengan 100 gram lemak babi. Pakan yang diberikan 40 mg/hari/tikus. Biotin produksi NATROL LLC Chatsworth, USA dalam bentuk tablet 10.000 mcg, digerus, diberikan pada tikus melalui sonde lambung. Kelompok perlakuan 1 diberi pakan diet tinggi lemak dan dosis biotin sebanyak 1,232 mg/kg berat badan tikus. Kelompok perlakuan 2 diberi pakan diet tinggi lemak dan dosis biotin sebanyak 68,39 mg/kg berat badan tikus. Kelompok perlakuan 2 diberi pakan diet tinggi lemak dan dosis biotin sebanyak 97,72 mg/kg berat badan tikus. Dosis suplementasi biotin berdasarkan penelitian sebelumnya dengan konversi dari mencit – tikus, dengan penambahan variasi dosis sebesar 15% (Larrieta et al., 2010; Boone-Villa et al., 2015; Aguilera-Méndez et al., 2012 & Moreno-Méndez et al., 2019).

Pengambilan sampel darah dilakukan pada minggu ke-6 penelitian. Tikus dipuasakan selama 8-10 jam selanjutnya dilakukan terminasi dengan anestesi menggunakan Ketamine-xylazine 75-100 mg/Kg dan 5-10 mg/Kg secara *intra peritoneal* (IP) menggunakan metode cervical dislocation. Darah diambil sekitar 2-3 ml diambil dari mata, diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Darah selanjutnya disentrifuge selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm hingga diperoleh serum. Pemeriksaan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL direk dilakukan menggunakan metode CHOD-PAP.

Data hasil penelitian akan dianalisa secara statistik dengan bantuan program *Windows SPSS*. Analisa deskriptif dilakukan untuk melihat gambaran karakteristik tikus wistar berdasarkan berat badan, hasil pemeriksaan kadarkolesterol total dan kolesterol LDL sesudah perlakuan. Analisa Bivariat dilakukan dengan uji beda *one way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Persentase Penambahan Berat Badan Tikus Wistar

Berat badan tikus wistar ditimbang setiap minggu untuk melihat kondisi tikus dan menentukan dosis biotin yang diberikan setiap tikus sesuai berat badannya. Penambahan berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1.

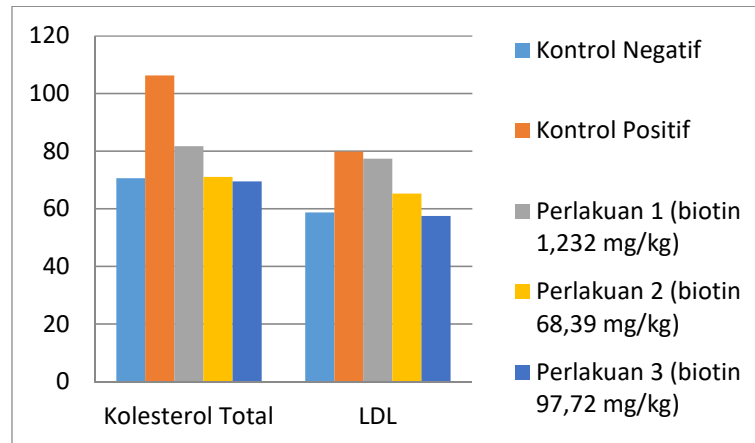
Persentase Penambahan Berat Badan Tikus Wistar

Kelompok	BB awal (g)	BB akhir (g)	Persentase Penambahan BB
Kontrol Negatif	162.33	295.00	81,72 %
Kontrol Positif	163.33	277.00	69,59 %
Perlakuan 1	158.50	265.33	67,40 %
Perlakuan 2	160.00	248.33	55,21 %
Perlakuan 3	157.67	254.00	61,10 %

Berat badan tikus wistar yang digunakan dalam penelitian mengalami penambahan jika dilihat dari minggu awal hingga minggu terakhir penelitian. Persentase penambahan berat badan pada kelompok kontrol negatif sebesar 81,72%. Kelompok kontrol positif yang diberi pakan dengan diet tinggi lemak mengalami penambahan berat badan sebesar 69,59%. Kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 yang diberi pakan dengan diet tinggi lemak dan variasi konsentrasi biotin melalui sonde berturut turut sebesar 67,40%; 55,21% dan 61,10%.

Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total dan Kolesterol LDL

Analisis data kadar kolesterol total dan kolesterol LDL tikus wistar diawali dengan analisis secara deskriptif disajikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total dan Kolesterol LDL Rata-Rata Tiap Kelompok

Gambar 1 menunjukkan rata-rata hasil pemeriksaan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL tikus wistar tiap kelompok. Hasil rata-rata kadar kolesterol total kelompok kontrol negatif adalah 70,62 mg/dl. Kelompok kontrol positif mengalami kenaikan kadar kolesterol total dibandingkan kontrol negatif yaitu 106,27 mg/dl. Kadar kolesterol total rata-rata kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 78,40 mg/dl; 71,03 mg/dl; 69,50 mg/dl. Persentase penurunan kadar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu sebanyak 26,2%; 33,2% dan 34,6%.

Hasil rata-rata kadar LDL kelompok kontrol negatif adalah 58,65 mg/dl. Kelompok kontrol positif mengalami kenaikan kadar LDL dibandingkan kontrol negatif yaitu 79,82 mg/dl. Kadar LDL rata-rata kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 77,43 mg/dl; 65,24 mg/dl; 57,51 mg/dl. Persentase penurunan kadar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu sebanyak 2,99%; 18,3% dan 27,95%.

Analisis data dilanjutkan dengan analisis bivariat meliputi uji normalitas dan uji *One Way* Anova. Uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi data karena jumlah sampel kurang dari 50. Hasil uji normalitas kadar profil lipid dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2.
Hasil Uji Normalitas Kadar Kolesterol Total dan Kolesterol LDL

		Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.
Kolesterol Total	KN	0,989	6	0,988
	KP	0,876	6	0,249
	Perlakuan 1	0,809	5	0,096
	Perlakuan 2	0,929	6	0,571
	Perlakuan 3	0,925	6	0,540
LDL	KN	0,951	6	0,749
	KP	0,854	6	0,168
	Perlakuan 1	0,917	5	0,508
	Perlakuan 2	0,929	6	0,569
	Perlakuan 3	0,834	6	0,117

Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk* diperoleh nilai $p \geq 0,05$ maka dapat diartikan bahwa data berdistribusi normal. Analisis data dilanjutkan dengan menghitung secara statistik untuk uji *Levene's Test* (homogenitas). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3.
Uji Homogenitas

Uji <i>Levene's Test</i> (Homogenitas)	Syarat Nilai p	Nilai p
	$\geq 0,05$	
1. Kolesterol Total		0,113
2. LDL		0,822

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki varians sama (homogen). Hasil yang didapatkan yaitu nilai p dari kolesterol total, kolesterol LDL berturut-turut adalah sebesar 0,113 dan 0,822. Semua nilai $p \geq 0,05$ berarti data tersebut homogen.

Analisis data dilanjutkan menggunakan uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4.

Uji *One Way ANOVA*

Uji <i>One Way ANOVA</i>	Syarat Nilai p	Nilai p
	$\leq 0,05$	
1. Kolesterol Total		0,008
2. LDL		0,000

Uji *One way ANOVA* digunakan untuk menguji rerata perbedaan data antara dua kelompok atau lebih. Hasil Tabel 4 menunjukkan nilai p kolesterol total 0,008 dan kolesterol LDL 0,000 ($p \leq 0,05$) maka ada pengaruh pemberian biotin terhadap kadar kolesterol total dan kolesterol LDL tikus wistar dengan resiko dislipidemia.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa pemberian biotin dapat menurunkan kadar kolesterol secara signifikan. Penelitian Orhan (2018) mendapatkan hasil bahwa pemberian biotin pada tikus yang diberi diet tinggi lemak terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol total. Suplementasi biotin memberikan efek yang baik dalam menurunkan kadar kolesterol LDL. Penurunan kadar LDL juga ditemukan pada penelitian sebelumnya (Asvini et al., 2018; Orhan et al., 2019 & Geohas et al., 2007).

Suplementasi biotin dalam adipose jaringan meningkatkan kadar bentuk tidak aktif dari *asetil-KoA karboksilase-1* dan *asetil-KoA karboksilase-2* (enzim yang dapat menurunkan sintesis asam lemak dan meningkatkan laju oksidasi asam lemak) yang mungkin terlibat dalam penurunan kadar asam lemak bebas serum (Boone-Villa et al. 2015 & Moreno-Méndez et al., 2019). Asam lemak bebas berkaitan dengan kolesterol pada beberapa jalur metabolisme.

Dislipidemia sering dikaitkan dengan penyakit kardiovaskular. Kolesterol LDL menjadi target utama intervensi terapeutik untuk mengurangi risiko kardiovaskular (Garg, 2015). Suplementasi biotin yang dapat menurunkan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL pada tikus wistar dengan resiko dislipidemia mungkin dapat menjadi salah satu langkah preventif, khususnya dari penyakit kardiovaskuler.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh pemberian variasi konsentrasi biotin terhadap kadar kolesterol total dan kolesterol LDL tikus wistar dengan resiko dislipidemia. Kadar kolesterol total dan kolesterol LDL mengalami penurunan setelah diberikan peningkatan konsentrasi biotin. Saran dari penelitian ini adalah agar melakukan penelitian lanjutan pemberian biotin pada parameter lain yang berhubungan dengan penyakit kardiovaskuler serta uji coba dosis sebelum diberikan ke manusia untuk mengurangi resiko dislipidemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilera-Méndez, A. and Fernández-Mejía, C. (2012) 'The hypotriglyceridemic effect of biotin supplementation involves increased levels of cGMP and AMPK activation', *BioFactors*, 38(5), pp. 387–394. doi: 10.1002/biof.1034.
- Anneke, R. and Sulistiyaningsih (2018) 'Review: Terapi Herbal sebagai Alternatif Pengobatan Dislipidemia', *Farmaka*, 16, pp. 213–221.
- Ardabilgazar, A. *et al.* (2018) 'Effect of High-dose Biotin on Thyroid Function Tests: Case Report and Literature Review', *Cureus*, 10(6), pp. 1–5. doi: 10.7759/cureus.2845.
- Asvini, N., Hemavathy, G. and Vasanthira, K. (2016) 'Combination Of Biotin With Atorvastatin Achieves Favourable Total Cholesterol: Hdl Ratio In Secondary Dyslipidemia: A Single Centre , Prospective , Open Label , Parallel Group , Comparative Study .', 6(4), pp. 34–40.
- Asvini, N. and Hemavathy, P. G. (2018) 'Effect of Biotin on the Lipid Profile – Total Cholesterol , LDL , Triglyceride , VLDL and HDL of Dyslipidemic Patients', 2(8), pp. 12–20.
- Boone-Villa, D. *et al.* (2015) 'Effects of Biotin Supplementation in the Diet on Adipose Tissue cGMP Concentrations, AMPK Activation, Lipolysis, and Serum-Free Fatty Acid Levels', *Journal of Medicinal Food*, 18(10), pp. 1150–1156. doi: 10.1089/jmf.2014.0170.
- Chistiakov, D. A. *et al.* (2017) 'Mechanisms of Foam Cell Formation in Atherosclerosis', *Journal of Molecular Medicine*. *Journal of Molecular Medicine*, 95(11), pp. 1153–1165. doi: 10.1007/s00109-017-1575-8.
- Depkes, R. (1979) *Farmakope Indonesia*. Ketiga. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Garg, A. (2015) *Dyslipidemia; Pathophysiology, Evaluation and Management*. Humana Press. doi: 10.1007/978-1-60761-424-1.
- Geohas, J. *et al.* (2007) 'Chromium picolinate and biotin combination reduces atherogenic index of plasma in patients with type 2 diabetes mellitus: A placebo-controlled, double-blinded, randomized clinical trial', *American Journal of the Medical Sciences*. Elsevier Masson SAS, 333(3), pp. 145–153. doi: 10.1097/MAJ.0b013e318031b3c9.
- Kopin, L. and Lowenstein, C. J. (2017) '[Dyslipidemia].', *American College of Physicians*, 71(2), pp. 275–279. doi: 10.7326/aitc201712050.
- Kwiterovich, P. O. (2010) 'The Johns Hopkins Textbook of Dyslipidemia', *Circulation*, pp. e517–—. doi: 10.1161/circulationaha.110.961201.
- Larrieta, E. *et al.* (2010) 'Pharmacological concentrations of biotin reduce serum triglycerides and the expression of lipogenic genes', *European Journal of Pharmacology*. Elsevier B.V., 644(1–3), pp. 263–268. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.07.009.

- Maramis, R. and Kaseke, M. (2014) 'Gambaran Histologi Aorta Tikus Wistar dengan Diet Lemak Babi Sirsak (*Annona muricata* L.)', *jurnal e-Biomedik*, 2, pp. 431–435.
- Moreno-Méndez, E., Hernández-Vázquez, A. and Fernández-Mejía, C. (2019) 'Effect of biotin supplementation on fatty acid metabolic pathways in 3T3-L1 adipocytes', *BioFactors*, 45(2), pp. 259–270. doi: 10.1002/biof.1480.
- Ontario, H. Q. (2014) 'Frequency of Testing for Dyslipidemia: An Evidence-Based Analysis', *Ontario health technology assessment series*, 14(6), pp. 1–30.
- Orhan, C. *et al.* (2019) 'Effect of supplementing chromium histidinate and picolinate complexes along with biotin on insulin sensitivity and related metabolic indices in rats fed a high-fat diet', *Food Science and Nutrition*, 7(1), pp. 183–194. doi: 10.1002/fsn3.851.
- Patel, D. P., Swink, S. M. and Castelo-Soccio, L. (2017) 'A Review of the Use of Biotin for Hair Loss', *Skin Appendage Disorders*, 3(3), pp. 166–169. doi: 10.1159/000462981.
- PERKI (2013) *pedoman tata laksana dislipidemia*, PP PERKI. doi: 10.1136/bcr.09.2008.0970.
- Revilla-Monsalve, C. *et al.* (2006) 'Biotin supplementation reduces plasma triacylglycerol and VLDL in type 2 diabetic patients and in nondiabetic subjects with hypertriglyceridemia', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60(4), pp. 182–185. doi: 10.1016/j.biopha.2006.03.005.
- Said, H. M. (2011) 'Chapter 1 Biotin: Biochemical, Physiological and Clinical Aspects', *Water Soluble Vitamins, Subcellular Biochemistry*, pp. 301–322. doi: 10.1007/978-94-007-2199-9.
- World Health Organization (2017) *Cardiovascular diseases (CVDs)*, *World Health Organization*. Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (Accessed: 9 June 2020).