



EFEK MINYAK IKAN TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI MENCIT YANG DIINDUKSI DENGAN AZOKSIMETAN DAN DEKSTRAN SODIUM SULFAT

Surya Buana Wangi¹, Stephen Dario Syofyan¹, Kusmardi^{2,3,4*}

¹Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Jalan Salemba Raya No.6, Jakarta Indonesia 10430

²Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Jalan Salemba Raya No.6, Jakarta Indonesia 10430

³Drug Development Research Cluster, Indonesia Medical Educational and Research Institute

Jalan Salemba Raya No.6, Jakarta Indonesia 10430

⁴Human Cancer Research Cluster, Indonesia Medical Educational and Research Institute,

Jalan Salemba Raya No.6, Jakarta Indonesia 10430

Diterima: 27 Juli 2024/Disetujui: 21 Desember 2024

*Korespondensi: kusmardi.ms@ui.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Wangi, S. B., Syofyan, S. D., & Kusmardi. (2024). Efek minyak ikan terhadap histopatologi hati mencit yang diinduksi dengan azoksimetan dan dekstran sodium sulfat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(12), 1172-1180. <http://dx.doi.org/10.17844/jphphi.v27i12.57508>

Abstrak

Kematian akibat kanker kolorektal umumnya disebabkan oleh kerusakan hati manusia melalui metastasis yang terjadi pada lever. Minyak ikan memiliki efek anti inflamasi dan imunomodulator yang dapat menurunkan tingkat kerusakan hati. Pengobatan kanker kolorektal sudah diteliti secara *in vivo* menggunakan hewan mencit dan tikus. Tujuan penelitian ini untuk menentukan dosis terbaik minyak ikan untuk memperbaiki kerusakan hati mencit melalui parameter jumlah fokus nekrosis, steatosis, inflamasi, displasia, dan vena sentral yang mengalami obstruksi. Minyak ikan dihasilkan dari bagian sirip, isi perut, dan kepala ikan tuna yang menjadi hasil samping dari industri pemfiletan, lalu diekstraksi dengan enzim papain. Lumatan sirip, isi perut, dan kepala ikan tuna dicampur enzim papain dengan persentase 85% dan 15%. Mencit percobaan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu tanpa minyak ikan, pemberian minyak ikan dosis rendah (1,5 mg/hari), dosis sedang (3 mg/hari), dan dosis tinggi (6 mg/hari). Perlakuan berupa induksi AOM 10 mg/kg BB dan DSS 2% (b/v) dilakukan pada keempat kelompok tersebut. Parameter yang dianalisis meliputi perhitungan jumlah fokus nekrosis, steatosis, inflamasi, displasia, dan vena sentral yang mengalami obstruksi. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan pemberian dosis minyak ikan berpengaruh pada jumlah fokus nekrosis dan obstruksi vena sentral hati mencit. Jumlah steatosis, inflamasi, dan displasia tidak ditemukan secara pengamatan mikroskopis pada hati mencit. Perlakuan terbaik yaitu pemberian minyak ikan dosis tinggi (6 mg/hari) karena dapat menurunkan fokus nekrotik dan obstruksi vena sentral pada hati mencit sebesar $24,40 \pm 3,29$ unit dan $4,20 \pm 2,28$ unit. Minyak ikan hasil samping ikan tuna (*Thunnus albacares*) dapat memperbaiki histopatologi hati mencit yang diinduksi dengan AOM dan DSS.

Kata kunci: enzim papain, fokus nekrosis, *in vivo*, *Thunnus albacares*, vena sentral

Effect of Fish Oil on the Histopathology of Liver in Mice Induced by Azoxymethane and Dextran Sodium Sulfate

Abstract

Death from colorectal cancer is generally caused by damage to the human liver through metastasis. Fish oil has anti-inflammatory and immunomodulatory effects, which can reduce liver damage. The treatment of colorectal cancer has been studied *in vivo* in mice. The purpose of this study was to determine the optimal dose of fish oil for liver damage in mice by measuring the number of necrotic foci, steatosis,

inflammation, displasia, and obstructed central veins. Fish oil is produced from the fins, stomach contents, and heads of tuna fish, which are by-products of the filleting industry, and is then extracted with papain. The fin pulp, stomach contents, and heads of tuna were mixed with papain at 85% and 15%, respectively. Experimental mice were divided into four groups: without fish oil, low-dose fish oil (1.5 mg/day), medium-dose (3 mg/day), and high-dose (6 mg/day). The four groups received treatment in the form of AOM induction at 10 mg/kg BW and DSS 2% (w/v). The parameters analyzed included the number of necrotic foci, steatosis, inflammation, displasia, and obstructed central veins. The results showed that different fish oil doses affected the number of necrotic foci and central vein obstruction in the livers of the mice. The extent of steatosis, inflammation, and displasia was not observed in the livers of the mice by microscopic observation. The best treatment was the administration of high-dose fish oil (6 mg/day) because it could reduce necrotic foci and central vein obstruction in the liver of mice by 24.40 ± 3.29 units and 4.20 ± 2.28 units. Oil from tuna fish (*Thunnus albacares*) can improve the histopathology of the livers of mice induced by AOM and DSS.

Keywords: central vein, in vivo, necrotic foci, papain enzyme, *Thunnus albacares*

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal merupakan penyakit kanker dengan jumlah pasien terbanyak keempat di Indonesia dengan tingkat kematian tertinggi kelima di Indonesia (Ferlay *et al.*, 2024). Jumlah kasus kanker kolorektal dari tahun 2020 hingga 2025 diprediksi mengalami peningkatan hingga 17,7% (Rahadiani *et al.*, 2022). Kematian akibat kanker kolorektal 60-70% disebabkan oleh kerusakan pada hati manusia melalui metastasis yang terjadi pada lever. Kanker kolorektal juga mengakibatkan steatosis pada lever manusia yang memperburuk kemungkinan untuk hidup (Chen *et al.*, 2021). Kanker kolorektal juga dapat disebabkan oleh proliferasi sel yang tidak normal, diferensiasi sel yang tidak dapat mengalami apoptosis, dan metastasis dari daerah tubuh yang lain (Ionescu *et al.*, 2023). Alternatif untuk pengobatan kanker kolorektal telah dicoba untuk diteliti, salah satunya adalah dengan pemberian minyak ikan kaya asam lemak omega-3 yang dibuat dari ikan salmon (Pettersen *et al.*, 2023). Asam lemak omega-3 khususnya EPA dan DHA telah menunjukkan korelasi yang lebih kuat dibandingkan asam lemak lainnya dalam melakukan pencegahan penyakit (Burdge & Calder, 2006). Pemberian asam lemak omega-3 diprediksi dapat menghambat proses perkembangan kanker kolorektal melalui kemampuannya untuk meregulasikan gen dan toksisitas zat dalam tubuh manusia (Tu *et al.*, 2020).

Minyak ikan telah diteliti dapat diperoleh dari berbagai sumber bahan baku ikan, yaitu kombinasi ikan patin dan ikan hiu dengan omega 3 mencapai 2,59% (Nor *et al.*, 2021), ikan layang (Suseno *et al.*, 2020a), jeroan ikan patin (Suseno *et al.*, 2020b), dan ikan tuna (La Dia *et al.*, 2022; Suseno *et al.*, 2024). Minyak ikan dalam penelitian ini diambil dari bagian sirip, isi perut, dan kepala ikan tuna yang menjadi hasil samping dari industri pemfiletan lalu diekstraksi dengan enzim papain. Arisky *et al.* (2021) melaporkan bahwa minyak ikan bandeng (*Chanos-chanos*) dapat diekstraksi menggunakan enzim papain konsentrasi 15%. Pengobatan kanker kolorektal sudah diteliti juga secara in vivo menggunakan hewan mencit dan tikus. Peneliti pada umumnya menggunakan mencit yang diinduksi menggunakan azoksimetan (AOM) dan dekstran sodium sulfat (DSS) (Dzhalilova *et al.*, 2023). Hal ini dilakukan karena setelah mencit mengalami induksi menggunakan AOM dan DSS, menghasilkan lesi-lesi pada hati mencit juga nekrosis, steatosis, dan neoplasma (Burlamaqui *et al.*, 2013). Lesi-lesi yang muncul tersebut memiliki sifat yang mirip dengan kanker kolorektal pada manusia. Penelitian mengenai pengaruh pemberian minyak ikan dari sirip, isi perut, dan kepala ikan tuna pada hati mencit yang terinduksi AOM dan DSS belum dilaporkan. Tujuan penelitian ini untuk menentukan dosis terbaik minyak ikan terhadap kerusakan hati mencit melalui parameter jumlah fokus nekrosis, steatosis, inflamasi, displasia, dan jumlah vena sentral yang mengalami obstruksi.



BAHAN DAN METODE

Preparasi Bahan Baku dan Ekstraksi Minyak Ikan (Arisky *et al.*, 2021)

Bahan baku sirip, isi perut, dan kepala ikan tuna (*Thunnus albacares*) diperoleh dari PT Maya Food industry, dicuci dengan air mengalir, ditimbang 500 g, dan dihaluskan menggunakan mesin penggiling. Lumatan sirip, isi perut, dan kepala ikan tuna dicampurkan dengan enzim papain yang dibeli di Pasar Kenari Lama, Jakarta Pusat dengan persentase 85% lumatan hasil samping ikan tuna dan 15% enzim papain. Sampel didiamkan selama 1 jam pada suhu 100°C selama 30 menit. Sampel ditekan dengan mesin pengepres (RSYZ-50, RUNSHI) selama 10 menit pada tekanan 25 kg/cm². Hasil pengepresan disaring dengan kain saring sehingga didapatkan minyak ikan.

Persiapan Hewan Coba (Parang *et al.*, 2016)

Subjek dalam penelitian ini merupakan mencit jantan Balb/c (*Rattus norvegicus*) berumur ±8 minggu dengan bobot 20-30 g. Mencit dipelihara di dalam kandang dengan masing-masing 1 kandang berisi 6 ekor mencit. Mencit diberikan pakan standar dan air mineral. Mencit dipelihara pada suhu 27°C, kelembapan udara 55% dengan 12 jam siklus terang dan gelap. Penggantian alas kandang dilakukan setiap hari. Persiapan hewan uji coba dilakukan di Laboratorium Departemen Patologi Anatomik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

Bioassay Mencit (Sun *et al.*, 2023)

Perlakuan yang dilakukan kepada mencit adalah aklimatisasi selama 1 minggu sebelum diinduksi dengan AOM. Metode perlakuan mencit telah disesuaikan dengan peraturan yang berlaku untuk perlakuan hewan-hewan percobaan berdasarkan *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* dari *Animal Care and Use Committee*.

Mencit percobaan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol/tanpa minyak ikan, mencit dengan pemberian minyak ikan dosis rendah (1,5 mg/hari), mencit dengan pemberian minyak ikan dosis sedang (3 mg/hari), dan mencit dengan pemberian minyak ikan dosis tinggi (6 mg/hari). Perlakuan yang sama dilakukan pada keempat kelompok berupa induksi AOM dan DSS (injeksi tunggal AOM dosis 10 mg/kg BB intraperitoneal dan larutan DSS 2% b/v setiap hari selama 7 hari) (Parang *et al.*, 2016). Kerusakan hati pada mencit-mencit di semua kelompok perlakuan dilakukan menggunakan injeksi AOM secara intraperitoneal yang sudah mengalami pelarutan hingga 0,9%. Dosis yang diberikan berupa dosis tunggal 10 mg/kg berat badan. Setelah diinduksi dengan AOM, semua mencit mendapatkan pakan dan minum air mineral secukupnya selama satu minggu. Pada minggu berikutnya, air mineral untuk kelompok perlakuan mengandung 2% DSS. Mencit dalam kelompok perlakuan dikorbankan setelah 10 minggu. Setelah induksi dengan AOM dan DSS mencit-mencit diberikan minyak ikan sesuai perlakuan dosis rendah (1,5 mg), sedang (3 mg), dan tinggi (6 mg) setiap hari hingga dikorbankan. Cara kerja yang telah dilakukan untuk Induksi karsinogenesis dan pemberian minyak ikan dapat dilihat pada *Figure 1*.

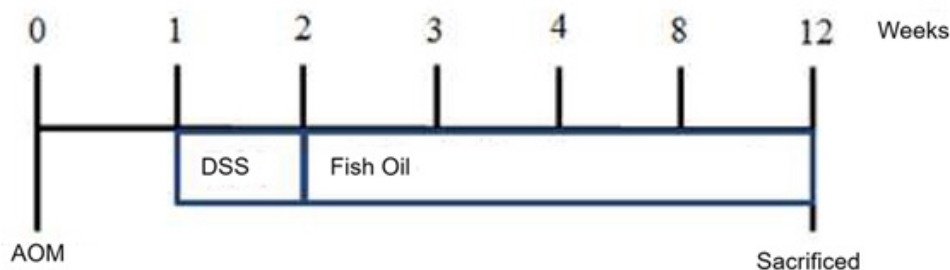


Figure 1 Carcinogenesis induction process and treatments of fish oil
Gambar 1 Protokol induksi karsinogenesis dan perlakuan minyak ikan

Pemeriksaan Histopatologi (Parang *et al.*, 2016)

Hati dari mencit setelah dipreparasi, dibersihkan dengan air kemudian dilakukan fiksasi menggunakan bufer formalin fosfat. Spesimen diambil dari potongan hati lobus kanan yang diletakkan di blok parafin dengan ketebalan 4 μ m dan ditempatkan pada gelas objek. Spesimen diberikan pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE). Parafinasi objek dengan xylol I, II, dan III dilakukan selama 5 menit untuk setiap larutan. Spesimen direhidrasi selama 5 menit dengan alkohol absolut 96% dan 70%. Spesimen dicuci untuk periode waktu 5 menit menggunakan air mengalir. Spesimen diimersikan dalam larutan meyer (hematoksilin) selama 7 menit, dibilas menggunakan air mengalir selama 10 menit, dan dimasukkan dalam larutan litium karbonat selama 5 menit. Spesimen dibilas menggunakan air mengalir selama 5 menit. Warna biru muncul pada spesimen setelah pewarnaan, apabila belum muncul direndam kembali dalam larutan meyer selama 2 menit dan dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan air mengalir. Selanjutnya, spesimen dimasukkan dalam larutan eosin selama 1-2 menit, didehidrasi menggunakan alkohol 70, 80, dan 96%, dan absolut selama 3 menit untuk setiap jenis alkohol. Setelah itu, *clearing* dilakukan untuk spesimen dengan xylol I, II, dan III. Spesimen diberikan entelan dan ditutup menggunakan kaca penutup.

Pengamatan spesimen dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 200 \times . Parameter yang dianalisis meliputi perhitungan jumlah fokus nekrosis,

steatosis, inflamasi, displasia, dan jumlah vena sentral yang mengalami obstruksi (Al-Zuhroh *et al.*, 2021; Parang *et al.*, 2016)K- (MSG 0.12 mg and CMC Na 0.1 mL.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan program SPSS versi 20. Hasil pemeriksaan histopatologi yang didapatkan dianalisis menggunakan tes uji hipotesis untuk melakukan perbandingan antara kelompok uji dan kontrol. Hasil dari pengukuran signifikan apabila $p < 0,05$ (CI=95%). Data yang didapatkan dari hasil pengukuran diukur untuk distribusinya menggunakan uji Shapiro-Wilk dan diuji homogenitasnya menggunakan uji Levene. Data yang terdistribusi normal dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan uji Anova satu arah dan uji lanjut dengan uji Tukey. Apabila distribusi dari datanya tidak normal maka data akan ditransformasikan menggunakan monogram Altman 1991 dengan logaritma atau metode lain sebelum dilakukan uji hipotesis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan pemberian dosis minyak ikan berpengaruh pada jumlah fokus nekrosis dan obstruksi vena sentral hati mencit ($p < 0,05$). Perlakuan tanpa minyak ikan berbeda nyata dengan perlakuan pemberian dosis rendah, sedang, dan tinggi. Jumlah steatosis, inflamasi, dan displasia tidak ditemukan secara pengamatan mikroskopis pada hati mencit. Hasil penelitian dapat dilihat pada *Table 1*.

Table 1 Necrotic focus, central vein obstruction, steatosis, inflammation, and displasia amount of the rat's heart tissue that has been induced with AOM and DSS

Tabel 1 Jumlah fokus nekrosis, obstruksi vena sentral, steatosis, inflamasi, dan displasia pada hati hati mencit yang diinduksi dengan AOM dan DSS

Parameter (unit)	Without fish oil	Low dose	Moderate dose	High dose
Necrotic focus	36.60 \pm 3.78 ^a	30.80 \pm 2.59 ^b	27.80 \pm 1.48 ^c	24.40 \pm 3.29 ^d
Central vein obstruction	9.00 \pm 2.00 ^a	6.40 \pm 2.51 ^b	7.20 \pm 2.78 ^c	4.20 \pm 2.28 ^d
Steatosis, inflammation, and displasia	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Different letter on the same row indicates significant differences ($p < 0.05$).

n.d = not detected



Fokus Nekrosis

Fokus nekrosis pada spesimen hati mencit yang telah diinduksi dapat terlihat dalam bentuk sebuah kelompok sel yang terfragmentasi dan tidak memiliki batas yang jelas seperti sel hati yang normal. Jumlah fokus nekrosis pada spesimen hati menurun seiring dengan peningkatan dosis minyak ikan yang diberikan. Hasil mikroskopis fokus nekrosis dapat dilihat pada *Figure 2*.

Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa jumlah fokus nekrosis pada hati mencit yang menerima minyak ikan dosis rendah sebesar $30,80 \pm 2,59$ unit, dosis sedang $27,80 \pm 1,48$ unit, dan dosis tinggi $24,40 \pm 3,29$ unit. Hasil ini sangat berbeda dengan kelompok kontrol sebesar $36,60 \pm 3,78$ unit. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat penurunan dalam jumlah fokus nekrotik pada hati mencit dibandingkan dengan pada kelompok kontrol, terutama pada dosis tinggi terjadi penurunan yang paling besar. Penurunan jumlah fokus nekrotik pada spesimen hati mencit dapat menunjukkan pengaruh positif dari pemberian minyak ikan melalui peningkatan pada jumlah antioksidan dalam mencit (Sales *et al.*, 2024).

Makin tinggi dosis minyak ikan makin rendah jumlah fokus nekrosis. Frost & Caplan (2019) menyatakan bahwa pemberian minyak ikan tuna kepada mencit yang diinduksi dengan AOM dan DSS dapat menurunkan tingkat nekrosis. Minyak ikan dapat menurunkan *C-Reactive protein* yang mengakibatkan penurunan jumlah nekrosis (Sekhon-Loodu *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2022). Penurunan jumlah fokus nekrosis juga dapat terjadi karena minyak ikan memiliki kemampuan untuk menstimulasi fungsi mitokondria dan penggabungan mitokondria sehingga mengurangi *reactive oxygen species* (Lepretti *et al.*, 2018). Hal ini mengakibatkan berkurangnya beban kerja hati sehingga berpengaruh pada penurunan jumlah fokus nekrosis dan perbaikan pada hati mencit. Penurunan dalam jumlah nekrosis menunjukkan terjadinya perbaikan dalam fungsi hati mencit (Shi *et al.*, 2019).

Obstruksi Vena Sentral

Obstruksi vena sentral dapat ditemukan pada spesimen hati mencit yang telah diinduksi. Obstruksi ditandai dengan terjadinya penyempitan lumen vena sentral oleh bekuan darah atau benda lain. Berdasarkan pemeriksaan histopatologis jumlah obstruksi vena sentral pada kelompok kontrol lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan minyak ikan. Gambaran obstruksi vena sentral pada hati mencit yang telah diinduksi dapat dilihat pada *Figure 2*.

Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa jumlah obstruksi vena pada dosis kontrol lebih tinggi dengan rerata $9,00 \pm 2,00$ unit sedangkan dosis rendah $6,40 \pm 2,51$ unit, dosis sedang $7,20 \pm 2,78$ unit, dan dosis tinggi sebesar $4,20 \pm 2,28$ unit. Minyak ikan dapat menurunkan jumlah obstruksi vena sentral karena memiliki pengaruh dalam peningkatan fungsi endotelial pembuluh darah (Tsutsumi *et al.*, 2021). Hal ini dapat disebabkan oleh kemampuan omega-3 dalam minyak ikan yang dapat meningkatkan produksi PPAR-gamma untuk meregulasikan efek anti-inflamasi pada hati manusia, peningkatan fungsi endotelium pembuluh darah, dan menurunkan produksi ROS (Heshmati, 2021). Asam lemak omega-3 memiliki efek hepatoprotektif (Gültekin *et al.*, 2021).

Fokus Steatosis, Inflamasi, dan Displasia

Hasil pengamatan menunjukkan tidak ditemukannya kumpulan serbuk sel radang pada spesimen jaringan hati mencit (*Figure 3*). Hal ini dapat disebabkan oleh proses induksi yang dilakukan dalam jangka waktu yang relatif lama sehingga sel-sel imun sudah tidak terlihat lagi (Parang *et al.*, 2016). Apabila jaringan tersebut mengalami pewarnaan imunohistokimia, mungkin dapat terjadi perubahan ekspresi genetik dan sitokin proinflamasi dapat dideteksi pada jaringan hati (Singh *et al.*, 2021). Hasil pengamatan menunjukkan tidak ditemukan displasia yang mungkin dapat disebabkan oleh rendahnya dosis induksi AOM, yaitu 10 mg/kg BB. Penelitian ini juga memiliki

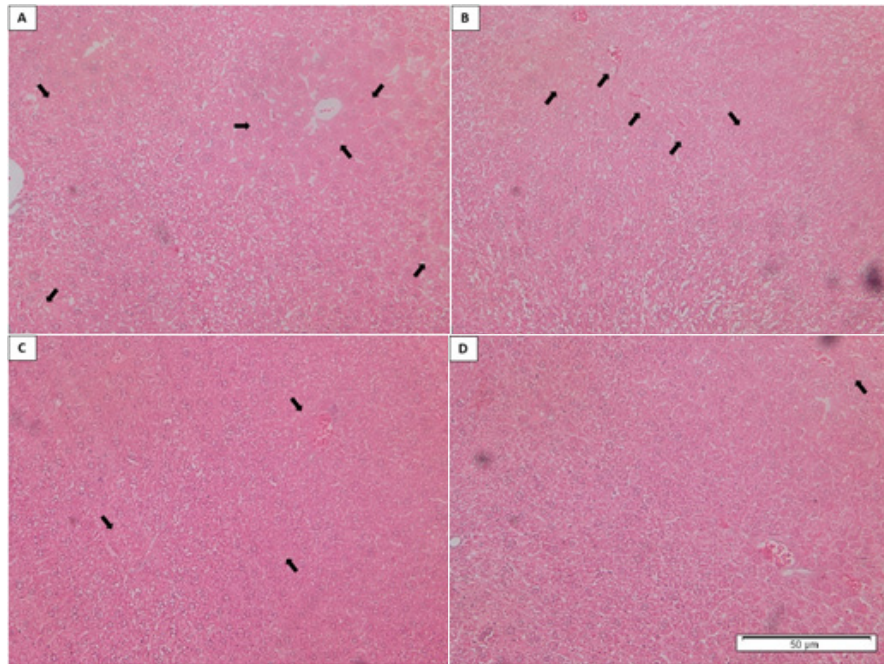


Figure 2 Necrotic focus picture of the rat's heart tissue that has been induced with AOM and DSS. and DSS; (A) no fish oil (B) low dose (C) moderate dose (D) high dose; HE immunostaining; Magnification 200×

Gambar 2 Gambaran fokus nekrosis pada hati mencit yang diinduksi dengan AOM dan DSS; (A) tanpa minyak ikan (B) dosis rendah (C) dosis sedang (D) dosis tinggi; Pewarnaan HE; Perbesaran 200×

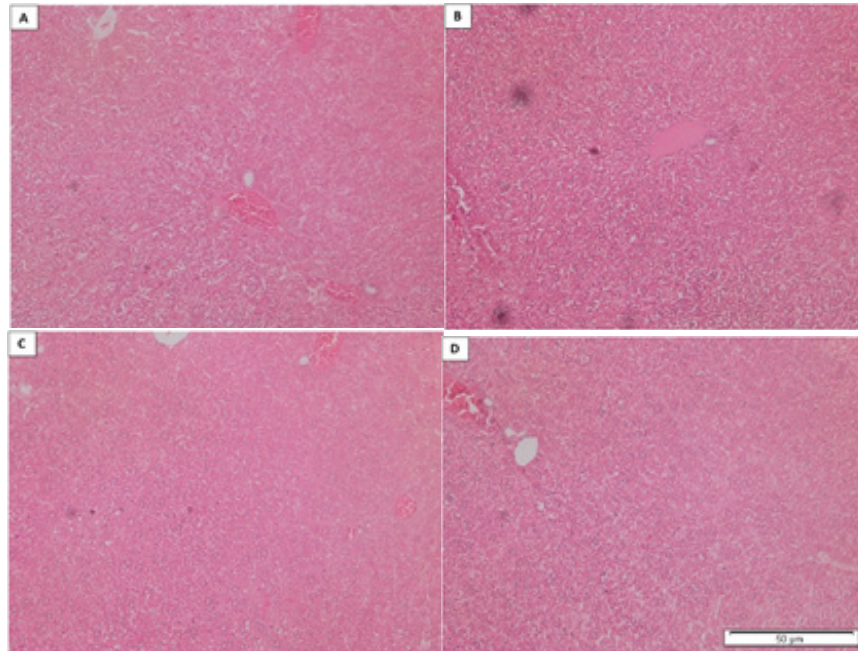


Figure 3 Steatosis lesion, displasia, inflammation, and neoplasia picture of the rat's heart tissue that that has been induced with AOM and DSS; (A) no fish oil (B) low dose (C) moderate dose (D) high dose; HE immunostaining; Magnification 200×

Gambar 3 Gambaran lesi steatosis, displasia dan neoplasia pada hati mencit yang diinduksi dengan AOM dan DSS; (A) tanpa minyak ikan (B) dosis rendah (C) dosis sedang (D) dosis tinggi; Pewarnaan HE; Perbesaran 200×



beberapa keterbatasan, yaitu kematian mencit dalam beberapa kelompok. Menurut estimasi yang telah dilakukan seharusnya setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 mencit, tetapi beberapa mencit mati setelah menerima perlakuan yang dapat disebabkan oleh induksi AOM dan DSS. Hal ini mengakibatkan menurunnya jumlah sampel hingga dibawah estimasi rumus Federer sehingga tidak dapat memenuhi berdasarkan rumus Federer.

Induksi menggunakan AOM dan DSS dapat mengakibatkan timbulnya lesi steatosis pada hati (15 mg/kg BB) (Oh *et al.*, 2020). Mekanisme terjadinya steatosis masih belum sepenuhnya diketahui, namun dicurigai terjadinya penurunan dalam produksi adinopektin, AdipoR1, dan AdipoR2 di lever dan sel lemak; juga terjadinya penurunan dalam aktivasi AMPK pada adiponectin, AdipoR1, AdipoR2, dan SIRT1 dalam lever mencit yang dapat menimbulkan regulasi metabolisme adinopektin-AMPK-SIRT1 pada lever manusia (Kwon *et al.*, 2021). Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukan jaringan steatosis pada hati mencit. Hal ini dapat disebabkan dengan dosis pemberian AOM dan DSS yang berbeda sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh dari induksi menggunakan AOM 10% dan DSS 2% (Parang *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Minyak ikan yang berasal dari ikan tuna dapat memperbaiki histopatologi hati mencit yang diinduksi dengan AOM dan DSS. Perlakuan terbaik yaitu pemberian minyak ikan dosis tinggi (6 mg/hari) karena dapat menurunkan fokus nekrotik dan obstruksi vena sentral pada hati mencit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Riset dan Penelitian Universitas Indonesia, Direktur Pendidikan Tinggi, dan Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah mendukung penelitian ini melalui pendanaan hibah internal dengan nomor kontrak: NKB-2917/UN2.RST/HKP.05.00/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Zuhroh, T. Y., Santoso, K. P., Yunita, M. N., Hidajati, N., & Praja, R. N. (2021). Necrosis description of mice lever induced with monosodium glutamate and methanol robusta coffee bean extract (*Coffea canephora*). *Jurnal Medik Veteriner*, 4(2), 213–221. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol4.iss2.2021.213-220>
- Arisky, Y. P., Supriyanto, S., & Fakhry, M. (2021). The effect of using bromelain and papain enzymes on the quality of pure fish oil from milkfish silage (*Chanos chanos*). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 13(2), 233–242. <https://doi.org/10.20473/jipk.v13i2.25827>
- Burdge, G. C., & Calder, P. C. (2006). Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: A metabolic perspective. *Nutrition Research Reviews*, 19(1), 26–52. <https://doi.org/10.1079/NRR2005113>
- Burlamaqui, I. M. B., Dornelas, C. A., Almeida, P. R. C., Jamacaru, F. V. F., Mota, D. M. C., Mesquita, F. J. C., de Brito, L. A., Veras, L. B., & Rodrigues, L. V. (2013). Hepatic repercussions of azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis. *Revista Do Colegio Brasileiro De Cirurgioes*, 40(2), 137–141. <https://doi.org/10.1590/s0100-69912013000200010>
- Chen, H., Dai, S., Fang, Y., Chen, L., Jiang, K., Wei, Q., & Ding, K. (2021). Hepatic steatosis predicts higher incidence of recurrence in colorectal cancer lever metastasis patients. *Frontiers in Oncology*, 11, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.631943>
- Dzhalilova, D., Zolotova, N., Fokichev, N., & Makarova, O. (2023). Murine models of colorectal cancer: The azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium (DSS) model of colitis-associated cancer. *PeerJ*, 11, 1–33. <https://doi.org/10.7717/peerj.16159>
- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Laversanne, M., Colombet, m, Mery, L., Pineros, M., Znaor, A., Soerjomataram, I., & Bray, F. (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today. *Cancer Today*.
- Gültekin, Y., Bolat, A., & Tekeli Kunt, A.

- (2021). Krill oil prevents atherosclerosis in an experimental model. *E-Journal of Cardiovascular Medicine*, 9(3), 150–157. <https://doi.org/10.32596/ejcm.galenos.2021-05-029>
- Heshmati, J. (2021). Effect of omega-3 fatty acid supplementation on gene expression of inflammation, oxidative stress and cardiometabolic parameters: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Functional Foods*, 85, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104619>
- Ionescu, V. A., Gheorghe, G., Bacalbasa, N., Chiotoroiu, A. L., & Diaconu, C. (2023). Colorectal cancer: from risk factors to oncogenesis. *Medicina*, 59(9), 1646–1659. <https://doi.org/10.3390/medicina59091646>
- Kwon, J., Lee, C., Heo, S., Kim, B., & Hyun, C. (2021). DSS-induced colitis is associated with adipose tissue dysfunction and disrupted hepatic lipid metabolism leading to hepatosteatosis and dyslipidemia in mice. *Scientific Reports*, 11, 5283–5299. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84761-1>
- La Dia, W. O. N. A., Trilaksana, W., & Ramadhan, W. (2022). Purifikasi minyak mata tuna kaya DHA (*Thunnus* sp.) dengan variasi adsorben. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(3), 428–440. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i3.42794>
- Lepretti, M., Martucciello, S., Burgos Aceves, M. A., Putti, R., & Lionetti, L. (2018). Omega-3 fatty acids and insulin resistance: Focus on the regulation of mitochondria and endoplasmic reticulum stress. *Nutrients*, 10(3), 350–370. <https://doi.org/10.3390/nu10030350>
- Nor, M. L., Diharmi, A., & Karnila, R. (2021). Karakteristik dan profil asam lemak kombinasi minyak ikan patin dan minyak hati ikan hiu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 122–130. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i1.33821>
- Oh, N. S., Joung, J. Y., Lee, J. Y., Kim, Y. J., Kim, Y., & Kim, S. H. (2020). A synbiotic combination of *Lactobacillus gasseri* 505 and *Cudrania tricuspidata* leaf extract prevents hepatic toxicity induced by colorectal cancer in mice. *Journal of Dairy Science*, 103(4), 2947–2955. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17411>
- Parang, B., Barret, C. W., & Williams, C. S. (2016). AOM/DSS model of colitis-associated cancer. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1422, 297–307. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3603-8_26
- Pettersen, C. H. H., Samdal, H., Sætrom, P., Wibe, A., Hermansen, E., & Schønberg, S. A. (2023). The salmon oil omega reduces viability of colorectal cancer cells and potentiates the anti-cancer effect of 5-FU. *Marine Drugs*, 21(12), 636–649. <https://doi.org/10.3390/md21120636>
- Rahadiani, N., Habiburrahman, M., Abdullah, M., Jeo, W. S., Stephanie, M., Handjari, D. R., & Krisnuhoni, E. (2022). Analysing 11 years of incidence trends, clinicopathological characteristics, and forecasts of colorectal cancer in young and old patients: A retrospective cross-sectional study in an Indonesian national referral hospital. *BMJ Open*, 12(9), e060839. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-060839>
- Sales, A. L. C. C., Primo, M. G. S., Mello Neto, R. S., Mendes, A. V. S., Furtado, M. M., Rocha, J. É. L., Almeida, J. O. C. S., França, J. V. S., Alencar, S. R., Brito, A. K. S., Lopes, L. O., Rizzo, M. S., Lustosa, A. K. M. F., Nunes, P. H. M., Lucarini, M., Durazzo, A., Arcanjo, D. D. R., & Martins, M. do C. C. (2024). A preliminary study on hepatoprotective, hypolipidemic and aortic morphometric effects of omega-3-rich fish oil in hypercholesterolemic Mice. *Pharmaceuticals*, 17(1), 72–85. <https://doi.org/10.3390/ph17010072>
- Sekhon-Loodu, S., Catalli, A., Kulka, M., Wang, Y., Shahidi, F., & Rupasinghe, H. P. V. (2014). Apple flavonols and n-3 polyunsaturated fatty acid-rich fish oil lowers blood C-reactive protein in rats with hypercholesterolemia and acute inflammation. *Nutrition Research*, 34(6), 535–543. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.05.002>



- Shi, S., Verstegen, M. M. A., Mezzanotte, L., De Jonge, J., Löwik, C. W. G. M., & Van Der Laan, L. J. W. (2019). Necroptotic cell death in liver transplantation and underlying diseases: mechanisms and clinical perspective. *Liver Transplantation*, 25(7), 1091–1104. <https://doi.org/10.1002/lt.25488>
- Singh, J., Thachil, T., Eapen, M. S., Lim, A., Sufyan, W., Rawson, R., Duncan, H., De Ieso, P., & Sohal, S. S. (2021). Immunohistochemical investigation of cytokine expression levels as biomarkers in transrectal ultrasound-guided needle biopsy specimens of prostate adenocarcinoma. *Molecular and Clinical Oncology*, 15(3), 191–199. <https://doi.org/10.3892/mco.2021.2353>
- Suseno, S. H., Kamini, & Listiana, D. (2020a). Ekstraksi *wet rendering* minyak ikan layang (*Decapterus macarellus*) dengan suhu rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 495–502. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.32629>
- Suseno, S. H., Riskon, A. K., Jacob, A. M., Nurjanah, & Supinah, P. (2020b). Ekstraksi *dry rendering* dan karakterisasi minyak ikan patin (*Pangasius* sp.) hasil samping industri filet di Lampung. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 38–46. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30722>
- Suseno, S. H., Ramadhan, W., Rakhmawati, I. A. I., Marhamah, A. S. R., & Salimah, H. A. (2024). Efektivitas metode kristalisasi suhu rendah dan urea dalam pembuatan konsentrat omega-3 ikan tuna (*Thunnus* sp.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(10), 975–989. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i10.56007>
- Sun, W., Gao, J., Yang, B., Chen, X., Kang, N., & Liu, W. (2023). Protocol for colitis-associated colorectal cancer murine model induced by AOM and DSS. *STAR Protocols*, 4(1), 102105. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102105>
- Tsutsumi, R., Yamasaki, Y., Takeo, J., Miyahara, H., Sebe, M., Bando, M., Tanba, Y., Mishima, Y., Takeji, K., Ueshima, N., Kuroda, M., Masumoto, S., Harada, N., Fukuda, D., Yoshimoto, R., Tsutsumi, Y. M., Aihara, K., Sata, M., & Sakaue, H. (2021). Long-chain monounsaturated fatty acids improve endothelial function with altering microbial flora. *Translational Research*, 237, 16–30. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2021.03.016>
- Tu, M., Wang, W., Zhang, G., & Hammock, B. D. (2020). ω -3 Polyunsaturated fatty acids on colonic inflammation and colon cancer: roles of lipid-metabolizing enzymes involved. *Nutrients*, 12(11), 3301–3319. <https://doi.org/10.3390/nu12113301>
- Zhou, J., Tang, G., Tang, S., & Yuan, W. (2022). The effect of fish oil on inflammation markers in adult patients undergoing hemodialysis: A meta-analysis. *Seminars in Dialysis*, 35(1), 6–14. <https://doi.org/10.1111/sdi.13018>