

Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review)

Utilization of Various Natural Materials as Cryoprotectants in Fish Sperm Cryopreservation (Literature Review)

Irfan Zidni^{1)*}, Yuli Andriani¹⁾, Samsul Maarif²⁾

¹⁾ Departemen Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran

²⁾ Program Sarjana Perikanan Laut Tropis, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran

*Penulis korespondensi : Email: Samsul22001@mail.unpad.ac.id

(Diterima Agustus 2026 /Disetujui September 2026)

ABSTRACT

Sperm cryopreservation is an important technology for supporting fish reproduction, seed production, and germplasm conservation. The use of synthetic cryoprotectants has limitations because inappropriate concentrations may cause cellular toxicity and reduce sperm quality. This review aimed to analyze the utilization of various natural materials as extracellular cryoprotectants and extender additives in fish sperm cryopreservation, focusing on their protective mechanisms, optimal concentrations, and effects on post-thaw sperm quality. A systematic literature review with a descriptive-comparative approach was conducted on scientific publications concerning the use of natural materials in fish sperm cryopreservation. The review showed that egg yolk, honey, date palm extract, young coconut water, basil leaf extract, and soybean milk have potential protective functions through membrane stabilization, osmoregulation, energy supply, and antioxidant activity. The combination of natural materials with intracellular cryoprotectants also improved the maintenance of sperm motility, viability, fertilization, and hatching performance. However, the effectiveness of natural cryoprotectants varied among fish species and was influenced by concentration, extender composition, and freezing and thawing conditions. Therefore, species-specific optimization of natural cryoprotectant formulations and concentrations is required to improve the efficiency and consistency of fish sperm cryopreservation.

Keywords: Antioxidant Activity, Membrane Stabilization, Osmoregulation, Sperm Quality, Post-thaw Performance

ABSTRAK

Kriopreservasi sperma merupakan teknologi penting dalam mendukung keberlanjutan reproduksi, penyediaan benih, dan konservasi plasma nutfah ikan. Penggunaan krioprotektan sintetis memiliki keterbatasan karena konsentrasi yang tidak tepat dapat menimbulkan toksisitas dan menurunkan kualitas spermatozoa. Artikel ini bertujuan menganalisis pemanfaatan berbagai bahan alami sebagai krioprotektan ekstraseluler dan bahan aditif ekstender dalam kriopreservasi sperma ikan, termasuk mekanisme perlindungan, dosis penggunaan, serta pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa pascapencairan. Metode yang digunakan adalah systematic literature review dengan pendekatan analisis deskriptif-komparatif terhadap publikasi ilmiah yang membahas penggunaan bahan alami pada spermatozoa ikan. Hasil tinjauan menunjukkan bahwa kuning telur, madu, sari kurma, air kelapa muda, ekstrak daun kemangi, dan susu kedelai memiliki potensi sebagai bahan pelindung melalui mekanisme stabilisasi membran, pengaturan osmolalitas, penyediaan energi, dan aktivitas antioksidan. Kombinasi bahan alami dengan krioprotektan intraseluler juga mampu mempertahankan motilitas, viabilitas, fertilisasi, dan daya tetas spermatozoa secara lebih baik. Efektivitas bahan alami berbeda antarspesies dan dipengaruhi oleh konsentrasi, jenis pengencer,

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

serta kondisi pembekuan dan pencairan. Oleh karena itu, optimasi formulasi dan dosis spesifik spesies diperlukan untuk meningkatkan keberhasilan kriopreservasi sperma ikan.

Kata kunci: Aktivitas Antioksidan, Stabilisasi Membran, Osmoregulasi, Kualitas Spermatozoa, Performa Pasca-pencairan

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati perikanan yang sangat tinggi, dengan ribuan spesies ikan asli dan endemik (Maulida *et al.*, 2020). Namun, degradasi lingkungan, polusi, serta eksploitasi berlebih terus mengancam kelestarian berbagai spesies ikan asli dari kepunahan (Maulida *et al.*, 2020). Dalam sektor budidaya dan upaya konservasi ex-situ, salah satu kendala reproduksi utama yang sering dihadapi adalah ketidakselarasan atau asinkronisasi waktu kematangan gonad antara induk jantan dan betina (Suminto *et al.*, 2010). Masalah ini mempersulit penyediaan benih secara konsisten sepanjang tahun (Rahardja *et al.*, 2010). Oleh karena itu, penerapan teknologi pembenihan buatan dan teknik preservasi spermatozoa menjadi sangat krusial untuk menjamin ketersediaan benih berkualitas tinggi serta melestarikan plasma nutfah ikan-ikan yang terancam punah (Handoko *et al.*, 2018).

Kriopreservasi merupakan metode penyimpanan sel atau bahan biologis pada suhu yang sangat rendah (misalnya dalam nitrogen cair pada suhu -196°C atau deep freezer pada suhu -80°C) dalam jangka waktu lama untuk mempertahankan sifat-sifat biologis sel tersebut sesempurna mungkin (Yonarta *et al.*, 2022). Proses pembekuan ini menekan metabolisme sel spermatozoa hingga tingkat basal, tetapi juga berisiko tinggi menimbulkan kerusakan fisik akibat pembentukan kristal es intraseluler dan cold shock selama proses penurunan suhu berlangsung (Pertiwi dan Abinawanto, 2024). Untuk melindungi integritas spermatozoa dari kerusakan tersebut, penggunaan ekstender (bahan pengencer) dan krioprotektan (CPA-Cryoprotective Agents) mutlak diperlukan (Abinawanto *et al.*, 2020). Krioprotektan umumnya dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan kemampuannya menembus membran sel: krioprotektan intraseluler (permeating) seperti dimetil sulfoksida (DMSO), metanol, dan gliserol; serta krioprotektan ekstraseluler (non-permeating) seperti kuning telur, madu, susu, dan kurma (Maulida *et al.*, 2020).

Meskipun krioprotektan sintesis seperti DMSO, metanol, dan gliserol sangat efektif dalam mencegah kristalisasi es di dalam sel, bahan-bahan kimia ini memiliki kelemahan utama berupa tingkat toksisitas seluler yang tinggi. Konsentrasi yang terlalu pekat atau waktu paparan yang terlalu lama sering kali menyebabkan kerusakan integritas membran plasma, stres osmotik yang ekstrem, serta penurunan viabilitas dan motilitas spermatozoa pasca-pencairan (post-thaw) (Abinawanto *et al.*, 2020). Menyadari keterbatasan tersebut, perhatian riset global kini bergeser pada eksplorasi bahan alami sebagai krioprotektan ekstraseluler atau bahan tambahan dalam ekstender (Abinawanto *et al.*, 2020). Bahan alami menawarkan alternatif proteksi yang murah, ramah lingkungan, mudah didapatkan, serta memiliki tingkat toksisitas yang jauh lebih rendah bagi sel gamet (Pertiwi dan Abinawanto, 2024).

Berbagai bahan alami seperti kuning telur, madu, sari kurma, dan air kelapa muda telah teruji efektivitasnya dalam meminimalkan kerusakan spermatozoa ikan selama pembekuan. Kuning telur mengandung fraksi lipoprotein berdensitas rendah (LDL) dan lesitin yang bertindak melapisi membran sel spermatozoa, menstabilkan struktur fosfolipid bilayer, mencegah lipid efflux, dan melindunginya dari cold shock (Pertiwi & Abinawanto, 2024). Madu dan sari kurma kaya akan karbohidrat sederhana berupa fruktosa dan glukosa yang berfungsi ganda, yaitu sebagai penyedia energi instan untuk metabolisme basal pasca-thawing serta menjaga tekanan osmotik media agar tetap isotonis dengan cairan semen (Pertiwi dan Abinawanto, 2024). Sementara itu, air kelapa muda mengandung gula alami dan elektrolit esensial yang efektif digunakan sebagai komponen ekstender alami untuk menjaga keseimbangan osmolalitas media (Fikriyah dan Triyani, 2023). Penggunaan kombinasi bahan alami ekstraseluler ini dengan krioprotektan intraseluler sintesis dosis rendah terbukti menghasilkan efek perlindungan yang komplementer melindungi sel secara simultan baik dari luar maupun dalam sehingga secara signifikan meningkatkan motilitas, viabilitas, dan laju fertilisasi post-thaw (Abinawanto *et al.*, 2020).

Meskipun keandalan bahan-bahan alami ini telah dilaporkan pada beberapa ikan lokal bernilai ekonomis dan terancam punah di Indonesia seperti ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) (Abinawanto *et al.*, 2020), ikan batak (*Tor soro*) (Maulida *et al.*, 2020), ikan lukas (*Puntius*

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

bramoides) (Pertiwi dan Abinawanto, 2024), belida (*Chitala lopis*) (Yonarta *et al.*, 2022), dan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) (Wiranto *et al.*, 2021). belum ada sebuah sintesis pustaka komprehensif yang mengulas dan membandingkan formulasi serta efektivitas berbagai bahan alami ini secara menyeluruh. Oleh karena itu, literatur review ini bertujuan untuk menganalisis pemanfaatan berbagai bahan alami sebagai krioprotektan ekstraseluler dan bahan aditif ekstender dalam kriopreservasi sperma ikan. Tinjauan ini akan memfokuskan pembahasan pada mekanisme proteksi biokimia masing-masing bahan alami, optimalisasi dosis penggunaannya di berbagai spesies ikan, serta dampaknya terhadap parameter kualitas sperma post-thaw, keberhasilan fertilisasi, dan tingkat penetasan telur.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penyusunan artikel ini adalah tinjauan pustaka sistematis (*systematic literature review*) yang dipadukan dengan pendekatan analisis deskriptif-komparatif. Protokol tinjauan ini dirancang untuk mengidentifikasi, menyaring, mengevaluasi, dan menyintesis seluruh penelitian ilmiah yang relevan mengenai penggunaan berbagai bahan alami sebagai krioprotektan atau bahan aditif dalam kriopreservasi sperma berbagai spesies ikan.

Pencarian artikel ilmiah dilakukan secara elektronik melalui beberapa basis data (database) bereputasi nasional maupun internasional, meliputi Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, dan Portal Garuda (Sinta). Rentang waktu penerbitan artikel yang dipilih dibatasi pada terbitan berkualitas tinggi tanpa batasan tahun yang ketat guna menangkap perkembangan histori dan teknologi kriopreservasi terbaru di Indonesia maupun global.

Kriteria inklusi meliputi artikel peer-reviewed atau prosiding yang menyajikan data eksperimental mengenai penggunaan bahan alami sebagai krioprotektan, ekstender, atau antioksidan pada spermatozoa ikan, baik air tawar maupun laut, serta tersedia dalam Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris dalam bentuk full-text. Kriteria eksklusi meliputi penelitian yang hanya menggunakan krioprotektan sintetis tanpa bahan alami, penelitian pada hewan non-ikan, serta dokumen yang tidak melalui proses peer-review atau tidak tersedia secara lengkap.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kriopreservasi dan Faktor-faktor yang Mempengaruhinya

Kriopreservasi sperma merupakan salah satu teknik bioteknologi reproduksi yang digunakan untuk mempertahankan viabilitas dan fungsi fisiologis spermatozoa dalam jangka waktu yang lama melalui proses pembekuan pada suhu sangat rendah, umumnya menggunakan nitrogen cair (-196°C) (Setiaji dan Annisa, 2020). Metode ini bertujuan memperlambat aktivitas metabolik sperma tanpa mengubah integritas morfologisnya (Vargas *et al.*, 2020). Namun, selama proses pembekuan dan pencairan, sperma mengalami berbagai tekanan fisiologis, seperti stres oksidatif, pembentukan kristal es intraseluler, dan kerusakan pada membran plasma serta organel sel, yang berdampak pada penurunan motilitas, viabilitas, dan kemampuan fertilisasi (Fleming dan Thomson, 2025).

pemahaman komprehensif mengenai fisiologi gamet serta aktivitas biokimia yang terjadi selama proses koleksi, pengolahan, pendinginan, pembekuan, dan pencairan kembali (*thawing*) merupakan fondasi utama dalam mengoptimalkan keberhasilan teknik kriopreservasi spermatozoa ikan (Zidni *et al.*, 2020). Dalam proses pembekuan sel, formulasi media krioprotektif (*Cryomedium*) yang tersusun atas agen pelindung (*Cryoprotective Agents*) dan bahan pengencer (*extender*) menjadi faktor penentu yang sangat krusial (Zidni *et al.*, 2022). Krioprotektan berperan aktif melindungi spermatozoa dari cekaman fisik dan kerusakan letal akibat transisi suhu ekstrem selama proses pembekuan dan pencairan berlangsung (Zidni *et al.*, 2020). Sementara itu, pengencer berfungsi mempertahankan sel sperma dalam kondisi tidak aktif bergerak (*immotile*) agar dapat menghemat cadangan energi basal (ATP) sebelum fertilisasi buatan dilakukan, sekaligus mendukung jalur metabolisme seluler selama masa penyimpanan (Maulida *et al.*, 2020). Pengencer yang ideal dirancang isotonis dengan tekanan osmotik seminal plasma spesies target, memiliki kapasitas penyangga (*buffering capacity*) yang baik, menstabilkan koloid, serta menyediakan nutrisi esensial (Maulida *et al.*, 2020). Sebagai contoh, senyawa gula sederhana seperti glukosa dan sukrosa dalam media pengencer terbukti efektif melindungi struktur fosfolipid membran sel spermatozoa selama proses penurunan suhu berlangsung (Zidni *et al.*, 2020).

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

Rasio pengenceran (*dilution ratio*) semen segar dengan larutan kriomedia sangat memengaruhi kelangsungan hidup spermatozoa karena berkaitan erat dengan risiko syok fisik dan osmotik (Zidni *et al.*, 2020). Ketika rasio pengenceran terlalu tinggi, spermatozoa terpapar perubahan lingkungan yang sangat mendadak akibat dominasi larutan pengencer dibandingkan seminal plasma asli, sehingga memicu stres osmotik ekstrem yang menurunkan nilai motilitas, viabilitas, dan derajat kelulushidupan sel pasca-pencairan (Ho *et al.*, 2021). Pada ikan *Kareius bicoloratus*, pengenceran semen dengan rasio di atas 1:10 secara signifikan menurunkan motilitas spermatozoa post-thaw akibat terjadinya kerusakan selubung membran plasma (Ho *et al.*, 2021). Sebaliknya, pada ikan *Larimichthys crocea*, rasio pengenceran rendah seperti 1:1 dan 1:3 menghasilkan nilai pergerakan sperma (*Movable Sperm Ratio*) dan viabilitas seluler tertinggi, sedangkan peningkatan rasio hingga 1:10–1:200 menyebabkan penurunan kualitas sperma yang sangat tajam (Lim *et al.*, 2021). Untuk berbagai spesies ikan, kisaran rasio pengenceran optimal yang disarankan berkisar antara 1:1 hingga 1:9 (Zidni *et al.*, 2024). Di samping rasio pengenceran, waktu ekuilibrasi (*equilibration time*) yang tepat sangat diperlukan agar agen krioprotektan dapat berpenetrasi ke dalam sel secara sempurna dan menyeimbangkan konsentrasi zat pelarut di dalam dan luar membran sel (Zidni *et al.*, 2020). Pada spermatozoa *K. bicoloratus*, waktu ekuilibrasi antara 30 hingga 150 detik memberikan hasil viabilitas terbaik, sementara ekuilibrasi yang melebihi 150 detik justru menurunkan kualitas sperma akibat efek toksisitas dari krioprotektan (Ho *et al.*, 2021). Namun, apabila ukuran sel sperma relatif kecil atau menggunakan krioprotektan dengan laju penetrasi cepat seperti DMSO, waktu ekuilibrasi yang panjang tidak diperlukan (Ho *et al.*, 2021).

Laju penurunan suhu pembekuan juga merupakan parameter kritis untuk mengontrol laju dehidrasi sel dan menekan pembentukan kristal es (Zidni *et al.*, 2020). Laju pembekuan yang kurang optimal atau terlalu cepat dapat menghalangi proses dehidrasi air dari dalam sel, sehingga memicu terbentuknya kristal es intraseluler tajam yang bersifat letal bagi sel karena merusak integritas membran plasma dan organel internal spermatozoa (Suhendra dan Hernosa, 2018). Setelah melewati fase penyimpanan beku, prosedur pencairan kembali memegang peranan yang tidak kalah penting dalam mengembalikan permeabilitas dan keutuhan membran sel secara cepat (Zidni *et al.*, 2020). Proses thawing direkomendasikan untuk dilakukan dengan sangat cepat menggunakan kombinasi suhu dan durasi waktu yang presisi guna mencegah terjadinya rekristalisasi es yang destruktif (Zidni *et al.*, 2020). Kisaran suhu thawing terbaik untuk sebagian besar spermatozoa ikan air tawar dan laut dilaporkan berkisar antara 30 °C hingga 40 °C (Wiranto *et al.*, 2021). Misalnya pada ikan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*), pencairan semen beku dalam straw pada suhu 37 °C selama 21 detik menghasilkan nilai motilitas dan viabilitas terbaik (Wiranto *et al.*, 2021). Sementara itu, pada ikan *Ctenopharyngodon idella* dan ikan belida (*Chitala lopis*), pencairan optimum dicapai pada suhu 35 °C selama 30 detik (Yonarta *et al.*, 2022), sedangkan pada ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) dilakukan pada suhu 40 °C selama 13 detik (Abinawanto *et al.*, 2020), dan ikan komet (*Carassius auratus*) pada suhu 37–38 °C selama 10 detik (Rahardja *et al.*, 2010). Jika suhu atau durasi pencairan tidak tepat, kerusakan mekanis pada organel mitokondria akan memutuskan rantai oksidasi seluler, sehingga spermatozoa kehilangan pasokan energi ATP yang dibutuhkan untuk menggerakkan ekor progresifnya (Wiranto *et al.*, 2021).

Secara keseluruhan, kualitas semen segar awal sebelum dibekukan menjadi prasyarat mutlak yang menentukan keberhasilan seluruh rangkaian proses kriopreservasi ini (Yonarta *et al.*, 2022). Semen segar yang layak dipreservasi harus memenuhi standar parameter makroskopis dan mikroskopis yang ketat, dengan persentase viabilitas minimal sebesar 70% serta persentase motilitas progresif awal di atas 50% hingga 70% (Rahardja *et al.*, 2010). Karakteristik fisikokimia cairan seminal plasma asli seperti osmolalitas, derajat keasaman (pH), dan kandungan konsentrasi ion-ion elektrolit esensial (potasium, sodium, kalsium) harus dijaga agar tetap seimbang dengan media pengencer (Wiranto *et al.*, 2021). Hal ini penting untuk menstabilkan potensial membran sel, menjaga aktivitas enzimatis, serta mencegah terjadinya aktivasi motilitas sperma secara dini sebelum spermatozoa dipertemukan dengan sel telur saat fertilisasi buatan (Maulida *et al.*, 2020).

Krioprotektan

Keberhasilan kriopreservasi spermatozoa ikan sangat bergantung pada pemilihan jenis dan konsentrasi agen krioprotektif (*Cryoprotective Agents*) yang tepat (Pertiwi dan Abinawanto, 2024). Berdasarkan berat molekul, kemampuan penetrasi, dan karakteristik fisikokimianya, krioprotektan secara umum diklasifikasikan ke dalam dua kelompok utama, yaitu krioprotektan intraseluler dan

krioprotektan ekstraseluler (Abinawanto, Alifiani, *et al.*, 2021). Penggunaan kedua tipe krioprotektan ini secara simultan terbukti menghasilkan efek perlindungan yang komplementer, yakni melindungi integritas sel spermatozoa baik dari dalam maupun luar selama proses pembekuan ekstrem berlangsung (Pertiwi dan Abinawanto, 2024).

Krioprotektan Intraseluler

Krioprotektan intraseluler memiliki karakteristik berupa berat molekul yang rendah, bersifat netral, hidrofilik, dan memiliki kelarutan yang sangat tinggi di dalam air (Abinawanto *et al.*, 2021). Karakteristik fisikokimia ini memungkinkan zat aktif untuk menembus membran plasma sel spermatozoa secara cepat melalui proses difusi pasif guna menggantikan sebagian besar air bebas di dalam sitoplasma (Maulida *et al.*, 2020). Fungsi utama dari krioprotektan intraseluler adalah menurunkan titik beku cairan seluler, menekan laju dehidrasi ekstrem, mereduksi konsentrasi elektrolit yang berbahaya, serta menghambat pembentukan kristal es tajam di dalam sel yang dapat merobek organel vital spermatozoa (Abinawanto, Alifiani, *et al.*, 2021).

Dimetil Sulfoksida (*Dimethyl Sulfoxide*) merupakan salah satu krioprotektan intraseluler paling populer dan paling sering digunakan dalam kriopreservasi spermatozoa berbagai spesies ikan karena memiliki struktur molekul polar yang sangat kecil, sehingga mampu berpenetrasi dan keluar sel dengan laju ekuilibrisasi yang sangat cepat (Ho *et al.*, 2021). DMSO bekerja efektif menstabilkan struktur fosfolipid membran sel, menekan ukuran kristal es, serta mereduksi pembentukan gelembung gas selama pembekuan (Yeol *et al.*, 2022). Meskipun sangat handal, penggunaan DMSO konsentrasi tinggi dapat memicu stres osmotik ekstrem akibat peningkatan nilai osmolalitas media secara mendadak (Wiranto *et al.*, 2021). Konsentrasi optimal penggunaan DMSO bervariasi luas sesuai spesifisitas spesies, berkisar antara 5% hingga 25% (Zidni *et al.*, 2022). Protokol terbaik dilaporkan pada ikan sebelah *Stone Flounder* (*Kareius bicoloratus*) dengan dosis 7,5%–10% jika dikombinasikan dengan pengencer glukosa, atau 15%–17,5% apabila dicampur dengan pengencer sukrosa (Ho *et al.*, 2021). Pada *Spotted Halibut* (*Verasper variegatus*), konsentrasi optimal dicapai pada 15% DMSO dengan pengencer sukrosa, sedangkan pada *Roughscale Sole* (*Clidoderma asperimum*) dosis terbaik adalah 10% DMSO dengan pengencer *Stein's solution* (Zidni *et al.*, 2020). Pada komoditas air tawar seperti ikan belida (*Chitala lopis*), penggunaan 20% DMSO dalam ekstender dasar madu terbukti paling optimal dalam mempertahankan kualitas spermatozoa selama 28 hari penyimpanan beku (Yonarta *et al.*, 2022).

Metanol (*Methanol*) merupakan jenis alkohol sederhana yang memiliki titik beku sangat rendah ($-97,5^{\circ}\text{C}$) dan ukuran molekul yang sangat kecil sehingga laju penetrasinya ke dalam sitoplasma sel sangat tinggi (Abinawanto *et al.*, 2021). Keunggulan utama metanol adalah memiliki tingkat toksisitas seluler yang relatif lebih rendah dibandingkan DMSO atau gliserol pada famili Cyprinidae dan sebagian besar spesies ikan air tawar (Zidni *et al.*, 2022). Metanol bekerja aktif menghambat pembentukan kristal es tajam di dalam sel dengan cara memicu dehidrasi aman sebelum suhu transisi dicapai (Zidni *et al.*, 2022). Namun, konsentrasi metanol di atas batas toleransi fisiologis sel dapat bersifat letal karena menghambat pembentukan energi ATP seluler (Abinawanto, Alifiani, *et al.*, 2021). Spesifikasi dosis optimal metanol pada ikan air tawar berkisar antara 5% hingga 15%. Pada ikan gudgeon (*Microphysogobio rapidus*), konsentrasi 10% metanol yang dilarutkan dalam *Ringer's solution* menghasilkan persentase motilitas, viabilitas, dan laju pembuahan tertinggi serta menekan persentase kerusakan DNA spermatozoa post-thaw secara signifikan (Zidni *et al.*, 2024). Dosis 10% metanol juga terbukti menjadi krioprotektan terbaik yang dikombinasikan dengan kuning telur untuk *Neolissochilus soroides* (Abinawanto *et al.*, 2021) serta dikombinasikan dengan madu 0,1% untuk ikan botia *Chromobotia macracanthus* (Abinawanto *et al.*, 2020).

Etilen Glikol (*Ethylene Glycol*) merupakan cairan jenuh dengan viskositas rendah dan berat molekul sangat kecil (62,07 g/mol) yang memberikan laju permeabilitas tinggi saat masuk dan keluar sel spermatozoa selama proses pengenceran (Elni *et al.*, 2024). Etilen Glikol bekerja dengan cara mengikat molekul air secara kuat untuk mencegah peningkatan konsentrasi zat terlarut yang ekstrem di dalam sel (Elni *et al.*, 2024). Krioprotektan ini dilaporkan sangat spesifik dan memberikan hasil perlindungan paling optimal pada komoditas laut Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*), di mana penggunaan 10% EG yang dikombinasikan dengan Artificial Seminal Plasma (ASP) menghasilkan nilai motilitas post-thaw terbaik ($70,33 \pm 1,20\%$), viabilitas tinggi ($78,30 \pm 0,42\%$), serta tingkat kerusakan DNA (% Tail DNA) terendah dibandingkan krioprotektan intraseluler lainnya (Lim *et al.*, 2021).

Gliserol (Glycerol) meskipun memiliki laju penetrasi membran sel yang lambat dan berpotensi menimbulkan toksisitas letal pada dosis tinggi (Abinawanto *et al.*, 2021), gliserol terbukti sangat andal untuk kriopreservasi ikan berskala komersial seperti kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) (Zidni *et al.*, 2022). Formulasi 6% gliserol yang dikombinasikan dengan bahan pelindung luar berupa susu kedelai (soybean milk) 15% atau susu skim 20% dalam media pengencer Marine Fish Ringer (MFR) secara konsisten menghasilkan persentase motilitas post-thaw terbaik di atas 80% (Maulida *et al.*, 2020).

Krioprotektan Ekstraseluler

Krioprotektan ekstraseluler memiliki karakteristik berupa ukuran molekul makro yang besar sehingga tidak memiliki kemampuan untuk menembus dinding maupun membran plasma spermatozoa (Maulida *et al.*, 2020). Fungsi utama dari krioprotektan ekstraseluler adalah menstabilkan struktur protein dan lipid penyusun membran sel bagian luar, meningkatkan potensial osmotik media ekstraseluler agar terjadi dehidrasi seluler yang terkendali, serta melindungi spermatozoa dari bahaya syok dingin (*cold shock*) selama penurunan suhu ekstrem berlangsung (Maulida *et al.*, 2020).

Kuning Telur (Egg Yolk) merupakan salah satu bahan alami ekstraseluler yang paling banyak dieksplorasi karena kaya akan kandungan lipoprotein berdensitas rendah (*LowDensity Lipoprotein*) dan lesitin (*fosfatidil kolin*) (Pertiwi dan Abinawanto, 2024). Fraksi LDL dan lesitin bekerja aktif sebagai agen pelapis (*membrane coating*) yang menempel pada struktur lipid membran spermatozoa, mempertahankan konfigurasi normal fosfolipid bilayer sel, serta mencegah terjadinya *lipid efflux* akibat cekaman suhu dingin. Penambahan kuning telur ayam maupun bebek ke dalam media pengencer secara signifikan menstabilkan membran luar sel gamet (Elmi *et al.*, 2024). Pada penelitian Pertiwi dan Abinawanto (2024) yang menggunakan ikan kancra (*Neolissochilus soroides*), penambahan 5% kuning telur ayam kampung (bersama 10% metanol) menghasilkan kelulushidupan spermatozoa terbaik pasca-pembekuan, sementara pada ikan lukas (*Puntius bramoides*), dosis optimal diperoleh pada konsentrasi 9% kuning telur.

Madu (Honey) bertindak sebagai krioprotektan ekstraseluler sekaligus penyedia asupan nutrisi instan bagi metabolisme spermatozoa karena melimpahnya kandungan karbohidrat sederhana berupa gula monosakarida (glukosa dan fruktosa) (Abinawanto *et al.*, 2020). Karbohidrat sederhana di dalam madu menjaga tekanan osmotik media agar tetap isotonis dengan cairan seminal plasma ikan (Hastuti dan Riviani, 2020). Selain itu, glukosa dan fruktosa diserap secara selektif melalui protein pembawa khusus pada membran sel (*carrier mediated diffusion*) untuk dikonversi menjadi energi ATP melalui jalur metabolisme glikolisis seluler (Hastuti dan Riviani, 2020). Suplai ATP yang stabil ini sangat penting untuk mendukung pergerakan progresif aktif ekor spermatozoa pasca-pencairan (Hidayaturrahmah, 2007). Madu juga bersifat non-toksik sehingga ramah terhadap viabilitas sel sperma (Abinawanto *et al.*, 2020). Dosis terbaik penggunaan madu murni dilaporkan sebesar 0,1% untuk ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) (Abinawanto *et al.*, 2020), 0,6% untuk ikan komet (*Carassius auratus auratus*) (Rahardja *et al.*, 2010), dan 0,7% untuk ikan gurami (*Osphronemus goramy*) (Abinawanto *et al.*, 2017).

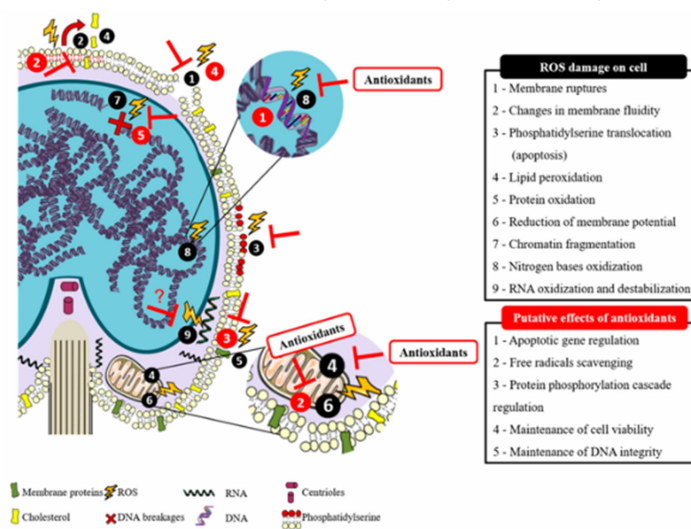
Sari Kurma, dan Susu Kedelai mengandung nutrisi esensial, protein kasein, vitamin larut lemak, dan derivat polifenol alami yang bertindak sebagai antioksidan fungsional untuk menangkap radikal bebas (ROS) ekstraseluler yang dihasilkan selama pembekuan dan penyimpanan jangka panjang (Hastuti dan Riviani, 2020). Bahan-bahan alami ini efektif menekan reaksi peroksidasi lipid berantai pada komponen asam lemak tak jenuh ganda (*Polyunsaturated Fatty Acids*) yang menyusun struktur membran spermatozoa, sehingga keutuhan materi genetik DNA spermatozoa tetap terpelihara sempurna (Sholihin dan Ducha 2024).

Sistem Pertahanan Antioksidan Pada Sperma ikan

Spermatozoa ikan memiliki kerentanan tinggi terhadap stres oksidatif karena membran spermatozoa kaya akan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) yang mudah mengalami peroksidasi lipid (Félix *et al.*, 2021). Selama proses kriopreservasi, perubahan suhu, pembentukan kristal es, dan gangguan metabolisme sel dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) (Vargas *et al.*, 2020). Akumulasi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan redoks dan memicu kerusakan lipid membran, protein, DNA, serta fungsi sel spermatozoa. Kondisi tersebut pada akhirnya dapat menurunkan motilitas, viabilitas, dan fungsi fertilisasi spermatozoa setelah pencairan (*post-thaw*) (Félix *et al.*, 2021).

Secara fisiologis, semen ikan memiliki sistem pertahanan antioksidan yang berfungsi mempertahankan keseimbangan antara ROS yang diperlukan untuk fungsi normal spermatozoa dan ROS berlebih yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif (Félix *et al.*, 2021). Sistem pertahanan tersebut terdiri atas komponen antioksidan enzimatis dan non-enzimatis (Vargas *et al.*, 2020). Komponen enzimatis utama meliputi superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), dan glutathione reductase, sedangkan komponen non-enzimatis meliputi vitamin C, vitamin E, dan glutathione (GSH) (Félix *et al.*, 2021). SOD berperan mengubah radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen, sedangkan CAT dan GPx berperan menguraikan H_2O_2 menjadi senyawa yang lebih stabil sehingga membatasi akumulasi ROS (Vargas *et al.*, 2020). Antioksidan non-enzimatis seperti vitamin C, vitamin E, dan glutathione berperan sebagai scavenger yang menangkap radikal aktif dan membantu menghambat reaksi oksidatif berantai.

Selama kriopreservasi, peningkatan ROS dan perubahan aktivitas sistem antioksidan menunjukkan bahwa spermatozoa mengalami tekanan oksidatif sehingga diperlukan perlindungan tambahan untuk mempertahankan kualitas sel. Suplementasi antioksidan pada media extender telah digunakan sebagai salah satu strategi untuk memperkuat sistem pertahanan oksidatif spermatozoa ikan (Félix *et al.*, 2021). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa suplementasi CAT dapat membantu mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa pada ikan zebra, sedangkan SOD dapat meningkatkan motilitas dan durasi motilitas spermatozoa setelah pencairan pada ikan rainbow trout (Félix *et al.*, 2021). Vitamin C juga berperan sebagai antioksidan larut air yang dapat menangkis beberapa jenis radikal, sedangkan vitamin E berperan melindungi membran sel dari peroksidasi lipid dan kerusakan DNA. Dengan demikian, penguatan sistem pertahanan antioksidan melalui suplementasi pada media kriopreservasi berpotensi mengurangi kerusakan oksidatif dan mempertahankan kualitas spermatozoa ikan selama proses pembekuan dan pencairan. Mekanisme pertahanan antioksidan dalam proses kriopreservasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme kerja antioksidan dalam mencegah kerusakan oksidatif spermatozoa ikan selama kriopreservasi. (Sumber : Félix *et al.*, 2021)

Bahan Alami Sebagai Krioprotektan

Eksplorasi bahan alami sebagai agen krioprotektif atau bahan aditif dalam media pembekuan spermatozoa ikan didasarkan pada kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi berperan sebagai antioksidan, penyedia energi, serta pelindung membran sel. Keberadaan senyawa seperti polifenol, flavonoid, vitamin, dan komponen bioaktif lainnya dapat mendukung sistem pertahanan antioksidan spermatozoa dengan membantu menetralkan ROS dan mengurangi kerusakan oksidatif selama proses kriopreservasi (Kusumawardani, 2023). Beberapa bahan alami yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Bahan Alami Sebagai Krioprotektan

Bahan Alami	Kandungan Aktif Utama	Mekanisme Proteksi	Referensi
Kuning Telur	Low-Density Lipoprotein (LDL), lesitin (fosfatidil kolin).	Bertindak sebagai membrane coating agent (pelapis membran ekstraseluler) yang menyelimuti struktur lipid luar sel, mempertahankan konfigurasi normal fosfolipid bilayer sel, dan mencegah lipid efflux akibat syok dingin (cold shock).	(Pertiwi & Abinawanto, 2024) (Abinawanto <i>et al.</i> , 2021) (Maulida <i>et al.</i> , 2020)
Madu	Karbohidrat sederhana: Fruktosa (40,73%), Glukosa (27,11%), maltosa, vitamin (B1, B2, B6, C, K), mineral mikro, enzim diastase, invertase, glukosa oksidase.	Berperan ganda: gula sederhana berdifusi sebagai substrat energi (ATP) instan untuk pergerakan flagella post-thawing, memelihara isotonisitas media, mencegah dehidrasi osmotik ekstrem, serta kandungan fenol bertindak sebagai penangkap radikal bebas.	(Abinawanto <i>et al.</i> , 2020) (Rahardja <i>et al.</i> , 2010) (Yonarta <i>et al.</i> , 2022)
Sari Kurma	Gula monosakarida (sukrosa, glukosa, fruktosa 63,35%-70%), polifenol, asam amino esensial, vitamin.	Kombinasi karbohidrat tinggi menyuplai energi basal spermatozoa, bertindak sebagai reduktor alami untuk meminimalkan efek toksisitas letal dari krioprotektan kimia sintesis (metanol/DMSO), serta meredam ROS ekstraseluler selama pembekuan.	(Abinawanto <i>et al.</i> , 2021)
Air Kelapa Muda	Elektrolit dan garam mineral (kalium, natrium, magnesium, kalsium), glukosa, fruktosa, zat pengatur tumbuh, asam amino, vitamin C.	Memiliki osmolalitas (~300 mOsmol/kg) yang isotonis dengan plasma semen ikan air tawar, sehingga menjaga spermatozoa dalam kondisi tidak aktif bergerak (dormant/immotile) untuk menghemat energi seluler sebelum dipertemukan dengan sel telur.	(Fikriyah dan Triyani, 2023)
Ekstrak Daun Kemangi	Flavonoid (apigenin, scutellarin 0,18% - 10%), tanin (11,18%), saponin, steroid, monoterpen, phenylpropanoid, asam fenolik.	Antioksidan fungsional kuat bekerja melalui: 1) Radical scavenging langsung dengan mendonorkan elektron/proton untuk menetralkan ROS dan memutus rantai peroksidasi lipid membran; 2) Metal chelating (pengikat ion logam Fe ²⁺ dan Cu ²⁺) guna menekan reaksi Fenton yang menghasilkan radikal hidroksil destruktif; menjaga keutuhan enzim ATPase mitokondria.	(Banusiandana <i>et al.</i> , 2025) (Sholihin & Ducha, 2024)
Susu Kedelai	Isoflavon, lesitin kedelai alami, kasein, protein susu nabati, lipid.	Mencegah pengikatan protein seminal plasma yang mempercepat kerusakan sel, meminimalkan pelepasan fosfolipid membran luar sel spermatozoa, dan melindungi membran bilayer dari thermal shock selama pembekuan.	(Afni <i>et al.</i> , 2019)

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

Bahan Alami	Kandungan Aktif Utama	Mekanisme Proteksi	Referensi
Ekstrak Daun Teh Hijau	Flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, tirosin, asam glutamat, serta karbohidrat (selulosa, glukosa, fruktosa, sukrosa) dan vitamin (A, B1, B2, C, E, K), dengan vitamin C dan E	Menghambat pembentukan radikal bebas dan reaksi oksidasi, serta melindungi lipid membran dari oksidasi (menekan reaksi yang merusak lipid membran akibat peroksidasi). Flavonoid sebagai komponen utama antioksidan bekerja dengan menghambat auto-oksidasi: memberi atom hidrogen dan mengubah radikal lipid menjadi bentuk yang lebih stabil, sehingga laju peroksidasi lipid berkurang.	(Miranda <i>et al.</i> , 2023)
Ekstrak Air Daun Tin (<i>Ficus carica</i>)	polifenol dan tanin	Ekstrak air daun tin mengandung polifenol dan tanin. Polifenol berperan dalam meningkatkan kerja enzim antioksidan seperti GSH, yang membantu mengubah H ₂ O ₂ dan lipid peroksida menjadi bentuk yang lebih aman. Sehingga mengurangi kerusakan akibat radikal bebas.	(Kusumawarda ni, 2023)

Penggunaan Bahan-Bahan Alami Sebagai Krioprotektan pada Ikan Tawar dan Ikan Laut

Penerapan bahan alami sebagai krioprotektan ekstraseluler maupun komponen pengencer (*extender*) fungsional menunjukkan tingkat keberhasilan yang tinggi pada berbagai spesies ikan asli, maupun endemik di Indonesia (Maulida *et al.*, 2020). Karakteristik semen yang sangat spesifik antarspesies. Menuntut formulasi dan dosis bahan alami yang presisi untuk meminimalkan dampak kerusakan akibat proses pembekuan (Ho *et al.*, 2021). Berikut adalah hasil evaluasi dan sintesis data penggunaan berbagai macam bahan alami lintas spesies ikan, baik pada kelompok ikan air tawar maupun ikan air laut.

Tabel 2. Pengaruh Krioprotektan Alami Pada Beberapa Jenis Ikan

N o	Spesies Ikan	Bahan Alami (Optimal)	Pengen cer	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Fertilisasi (%)	Hatching Rate (%)	Referen si
1	Ikan Lukas (<i>P. bramoide</i> s)	Kuning Telur 9%	Metanol 10% + Glukosa	—	80,75 ± 1,55	—	—	(Pertiwi dan Abinawanto, 2024)
2	Ikan Kancra (<i>N. soroides</i>)	Kuning Telur Ayam Kampung 5%	Metanol 10% + Fish Ringer	84,06 ± 1,67	82,13 ± 1,75	92,96 ± 1,94	—	(Abinawanto <i>et al.</i> , 2021)
3	Ikan Botia (<i>C. macracan</i>)	Larutan Madu 0,1%	Metanol 10% + Fish	89,40 ± 5,45	85,75 ± 4,79	98,55 ± 1,69	—	(Abinawanto <i>et al.</i> ,

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

N o	Spesies Ikan	Bahan Alami (Optimal)	Pengen cer	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Fertilisas i (%)	Hatching Rate (%)	Referen si
		<i>thus</i>)	Ringer					2020)
4	Ikan Tawes (<i>B. gonionotus</i>)	Larutan Madu 0,6%	NaCl Fisiologi s	Kategori Baik (Hari ke-2)	—	90,67 ± 3,06	86,67 ± 2,31	(Devi <i>et al.</i> , 2019)
5	Ikan Komet (<i>C. auratus</i>)	Larutan Madu 0,6%	NaCl Fisiologi s	—	63,89	—	—	(Rahardja <i>et al.</i> , 2010)
6	Ikan Belida (<i>Chitala lopis</i>)	Madu (Ekstender Dasar)	DMSO 20%	Skor 3	48,93	—	—	(Yonarta <i>et al.</i> , 2022)
7	Ikan Batak (<i>Tor soro</i>)	Sari Kurma 10%	Metanol 10% + Fish Ringer	81,29 ± 1,01	—	88,50 ± 1,73	—	(Abinawanto <i>et al.</i> , 2021)
8	Ikan Mas Puntun (<i>Cyprinus carpio</i>)	Air Kelapa Muda 50%	NaCl 50%	83,33	95,82	48,00	40,50	(Fikriyah dan Triyani, 2023)
9	Kerapu Kertang (<i>E. lanceolatus</i>)	Susu Kedelai 15%	Gliserol 6% + MFR	81,17 ± 1,92	—	—	—	(Afni <i>et al.</i> , 2019)
10	Ikan Depik (<i>R. tawarensis</i>)	Kuning Telur 5%	DMSO 5% + Larutan Ringer	61,00	—	55,95	—	(Maulida <i>et al.</i> , 2020)

Ikan Lukas (*Puntius bramoides*) Teknologi kriopreservasi sperma ikan konsumsi asli Indonesia ini berhasil dioptimalkan menggunakan kuning telur ayam sebagai pelindung membran ekstraseluler alami. Pada penelitian (Pertiwi dan Abinawanto 2024) penambahan kuning telur dengan konsentrasi optimum sebesar 9% (dikombinasikan dengan pengencer glukosa dan metanol 10%) menghasilkan viabilitas spermatozoa post-thaw sebesar $80,75 \pm 1,55\%$ setelah pembekuan dalam *deep freezer* pada suhu $-34\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam. Kuning telur bekerja efektif karena kaya akan lesitin (fosfatidil kolin) yang bertindak sebagai *membrane coating* untuk mempertahankan konfigurasi fosfolipid bilayer penyusun membran plasma spermatozoa, sehingga mencegah kerusakan fisik akibat *cold shock* selama transisi suhu (Pertiwi dan Abinawanto, 2024).

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

Ikan Kancra (*Neolissochilus soroides*) Penyimpanan semen jangka pendek ikan cyprinidae bernilai tinggi ini menunjukkan hasil terbaik pada penambahan 5% kuning telur ayam kampung yang disinergikan dengan 10% metanol menggunakan pengencer *Fish Ringer* (Abinawanto *et al.*, 2021). Protokol pembekuan pada suhu -10°C selama 48 jam ini menghasilkan tingkat kelulushidupan (*viabilitas*) spermatozoa sebesar $82,13 \pm 1,75\%$, laju fertilisasi telur mencapai $92,96 \pm 1,94\%$, dengan tingkat abnormalitas spermatozoa terendah sebesar $25,25 \pm 2,22\%$. Dosis kuning telur ayam kampung sebesar 5% ini juga berhasil mempertahankan tingkat motilitas post-thaw tertinggi mencapai $84,06 \pm 1,67\%$ (Abinawanto *et al.*, 2021).

Ikan Botia (*Chromobotia macracanthus*) Sebagai salah satu ikan hias air tawar populer endemik Sumatera dan Kalimantan yang populasinya terus menurun di alam, kriopreservasi sperma ikan botia berhasil dioptimalkan menggunakan madu murni sebagai krioprotektan alami ekstraseluler komplementer. Pada penelitian Abinawanto *et al.* (2020) dengan formulasi terbaik dicapai melalui kombinasi 0,1% larutan madu dan 10% metanol di dalam larutan pengencer *Fish Ringer*. Protokol ini menghasilkan angka motilitas pasca-pencairan (*post-thaw*) sebesar $89,4 \pm 5,45\%$, *viabilitas* mencapai $85,75 \pm 4,78\%$, dan persentase fertilisasi telur yang sangat tinggi sebesar $98,55 \pm 1,69\%$ setelah pembekuan pada suhu -80°C selama 48 jam. Penggunaan konsentrasi madu murni di atas 0,1% justru menurunkan kualitas spermatozoa karena viskositas media yang terlalu pekat menghalangi penetrasi metanol masuk ke dalam sel. Karbohidrat sederhana pada madu diserap spermatozoa dan dikonversi menjadi energi ATP untuk mengaktifkan protein dinein pada ekor sel, sehingga menjaga daya gerak progresif spermatozoa post-thaw (Abinawanto *et al.*, 2020).

Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*) pada penelitian Devi *et al.*, (2019) Penyimpanan semen segar ikan tawes pada suhu ruang (26°C) dan suhu dingin (4°C) menggunakan pengencer NaCl 1,3% murni umumnya hanya bertahan maksimal selama 60 menit. Namun, penambahan 0,6 mL madu murni ke dalam 99,4 mL media pengencer NaCl fisiologis berhasil menjaga fungsionalitas sperma secara signifikan. Protokol ini menghasilkan persentase pembuahan (*fertilization*) sel telur terbaik sebesar $90,67 \pm 3,06\%$ dan derajat penetasan (*hatching rate*) telur hingga mencapai $86,67 \pm 2,31\%$ (Devi *et al.*, 2019). Monosakarida di dalam madu menyuplai kebutuhan energi metabolisme spermatozoa pasca-pengenceran.

Ikan Komet (*Carassius auratus auratus*) pada penelitian Rahardja *et al.*, (2010) Penambahan media pengencer madu dengan dosis optimal sebesar 0,6% menjadi konsentrasi terbaik yang mampu mempertahankan persentase *viabilitas* spermatozoa komet post-thawing sebesar 63,89% dan laju durasi gerak aktif spermatozoa selama 39,67 detik setelah penyimpanan beku jangka panjang.

Ikan Depik (*Rasbora tawarensis*) pada tinjauan kepustakaan yang dilakukan Maulida *et al.*, (2020), ikan depik merupakan spesies endemik terancam punah (*Critically Endangered*) asal Danau Laut Tawar Aceh, konservasi sperma ikan depik dilakukan menggunakan kombinasi 5% DMSO dan 5% kuning telur di dalam larutan pengencer Ringer. Metode pembekuan jangka pendek dalam nitrogen cair selama 15 hari ini mampu mempertahankan persentase motilitas post-thaw sebesar 61,00% dengan laju fertilisasi mencapai 55,95.

Ikan Mas Punten (*Cyprinus carpio* L.) pada penelitian yang dilakukan Fikriyah dan Triyani, (2023) dalam menunjang keberhasilan pembuahan buatan dan teknologi reproduksi ginogenesis pada ikan mas asli kota Batu ini, air kelapa muda dieksplorasi sebagai extender alami karena mengandung karbohidrat isotonis (glukosa, fruktosa) dan elektrolit seimbang. Pengenceran semen menggunakan formulasi 50% air kelapa muda + 50% NaCl terbukti menjadi perlakuan terbaik dengan menghasilkan nilai motilitas spermatozoa pasca-aktivasi sebesar 83,33%, laju pembuahan telur (*fertilization rate*) sebesar 48%, derajat penetasan telur (*hatching rate*) mencapai 40,5%, serta kelangsungan hidup larva hari ke-21 sebesar 85,55%. Keseimbangan osmolalitas air kelapa muda mencegah sperma mengalami dehidrasi osmotik ekstrem atau lisis membran selama proses radiasi UV.

Kerapu Kertang (*Epinephelus lanceolatus*) pada penelitian Afni *et al.* (2019) penyimpanan semen beku komoditas laut unggulan Asia ini berhasil dikembangkan menggunakan susu kedelai (*soybean milk*) sebagai krioprotektan ekstraseluler fungsional di dalam freezer komersial (-20°C). Pengenceran semen segar menggunakan 15% susu kedelai (yang dikombinasikan dengan pengencer *Marine Fish Ringer* [MFR] dan gliserol 6%) menghasilkan persentase motilitas post-thaw yang sangat optimal sebesar $81,17 \pm 1,92\%$ setelah penyimpanan beku selama 48 jam. Protein kasein di dalam susu kedelai bertindak mengurangi kekuatan ikatan protein plasma semen

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

terhadap sel spermatozoa sehingga mengurangi tingkat pelepasan lipid dari membran sel selama penyimpanan beku. Selain itu, kandungan lesitin alami di dalam kedelai berperan memulihkan gugus fosfolipid yang hilang akibat syok termal (*thermal shock*) guna mempertahankan keutuhan membran plasma spermatozoa.

Ikan Batak (*Tor soro*) Ikan air tawar bernilai ekonomi tinggi yang hidup di aliran air deras ini sangat rentan punah akibat *overfishing* (Maulida *et al.*, 2020). Keberhasilan kriopreservasi spermatozoa ikan batak dilaporkan menggunakan sari kurma (*date palm extract*) sebagai bahan aditif alami berenergi tinggi untuk mereduksi efek toksisitas metanol. Formulasi optimal dicapai pada kombinasi 10% ekstrak sari kurma dan 10% metanol di dalam larutan pengencer Ringer. Protokol ini mampu mempertahankan persentase motilitas post-thaw tertinggi sebesar $81,29 \pm 1,01\%$, dengan laju pembuahan (*fertilization rate*) telur sebesar $88,50 \pm 1,73\%$, serta meminimalisasi tingkat abnormalitas spermatozoa hingga ke tingkat terendah yaitu $21,50 \pm 1,29\%$ (Abinawanto *et al.*, 2021). Gula sederhana (glukosa dan fruktosa) di dalam sari kurma memberikan asupan energi tambahan untuk metabolisme basal spermatozoa selama proses pembekuan dan melindungi sel dari *cold shock*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil tinjauan pustaka, berbagai bahan alami seperti kuning telur, madu, sari kurma, air kelapa muda, ekstrak daun kemangi, dan susu kedelai berpotensi digunakan sebagai krioprotektan ekstraseluler maupun bahan aditif ekstender dalam kriopreservasi sperma ikan. Masing-masing bahan memiliki mekanisme perlindungan yang berbeda, antara lain menjaga stabilitas membran spermatozoa, mempertahankan keseimbangan osmotik, menyediakan sumber energi, serta mengurangi kerusakan oksidatif akibat Reactive Oxygen Species (ROS). Penggunaan bahan alami yang dikombinasikan dengan krioprotektan intraseluler juga menunjukkan efek protektif yang lebih optimal terhadap kualitas spermatozoa pascapencairan. Efektivitas bahan alami ditunjukkan melalui peningkatan atau pemertahanan motilitas, viabilitas, fertilisasi, dan daya tetas pada berbagai spesies ikan, dengan hasil terbaik antara lain kombinasi madu 0,1% dan metanol 10% pada ikan botia yang menghasilkan motilitas $89,40 \pm 5,45\%$, viabilitas $85,75 \pm 4,79\%$, dan fertilisasi $98,55 \pm 1,69\%$. Namun, efektivitas bahan alami bersifat spesifik terhadap spesies, jenis bahan, konsentrasi, pengencer, serta kondisi pembekuan dan pencairan, sehingga diperlukan optimasi formulasi untuk setiap spesies ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abinawanto, A., Musthofa, S. Z., Lestari, R., & Bowolaksono, A. (2020). Pengaruh Larutan Madu Sebagai Krioprotektan Alami Terhadap Kualitas Sperma Ikan Botia (*Chromobotia Macracanthus Bleeker 1852*). 20(3), 205–216. <https://doi.org/10.32491/Jii.V20i3.528>
- Abinawanto, A., Vardini, N., Kristanto, A. H., Lestari, R., & Bowolaksono, A. (2021). Effect Of Egg Yolk Of Free-Range Chicken And Methanol As A Cryoprotective Agent For The Sperm Preservation Of Cyprinid Fish, *Neolissochilus Soroides*. *Heliyon*, 7(November 2020), E08158. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.E08158>
- Abinawanto, Alifiani, D. P., Kristanto, A. H., & Dwiranti, A. (2021). *Date Palm Extract Effect On Quality Of Mahseer Fish (Tor Soro) Spermatozoa After Frozen Storage*. 48(6).
- Abinawanto, Pratiwi, I. A., & Lestari, R. (2017). *Sperm Motility Of Giant Gourami (Osphronemus Goramy , Lacepede , 1801) At Several Concentrations Of Honey Combined With DmsO After Short-Term Storage*. 10(2), 2017.
- Afni, R. T. A., Abinawanto, Lestari, R., Bowolaksono, A., & Zavitr, N. G. (2019). *Spermatozoa Motility Of Giant Grouper (Epinephelus Lanceolatus) 48 Hours: The Role Of Soybean Milk As A Cryoprotectant*. *Aip Conference Proceedings*, November. <https://doi.org/10.1063/1.5132519>
- Banusindana, P. P., Susilowati, S., & Mulyati, S. (2025). *Original Article Potential Of Basil (Ocimum Basilicum) Leaf Extract In Tris-Egg Yolk Extender On Sperm Motility And Plasma*

To Cite this Paper : Andriani, Y., Zidni, I., Maarif, S. 2026. Pemanfaatan Berbagai Bahan Alami Sebagai Krioprotektan Dalam Kriopreservasi Sperma Ikan (Literature Review). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, Volume 17 (2): 246-259

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI>

<http://dx.doi.org/10.35316/jsapi.v17i2.10567>

- Membrane Integrity Of Sapudi Ram At Room Temperature*. 3, 119–126. <https://doi.org/10.20473/Ovz.V14i3.2025.119-126>
- Devi, O. S., Susilowati, T., & Nugroho, R. A. (2019). Pengaruh Penambahan Madu Dengan Dosis Berbeda Dalam Media Pengencer NaCl Fisiologis Terhadap Kualitas Sperma Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 3, 21–30.
- Elni, M. Y., Kune, P., & Riwu, A. R. (2024). Pengaruh Level Etilen Glikol Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi. *Jurnal Penelitian Ilmu Humaniora Jpih*, 7(8), 8–16.
- Félix, F., Oliveira, C. C. V., & Cabrita, E. (2021). *Antioxidants In Fish Sperm And The Potential Role Of Melatonin*. *Antioxidants Review*. <https://doi.org/10.3390/Antiox10010036>
- Fikriyah, S., & Triyani, N. (2023). Efektivitas Penambahan Bahan Pengencer Sperma Yang Berbeda Terhadap Tingkat Keberhasilan Ginogenesis Ikan Mas Punten (*Cyprinus Carpio* L.). *Jurnal Ilmu Perikanan Dan Budidaya Perairan*, 18(2), 112–118.
- Fleming, S. D., & Thomson, L. K. (2025). *The Oxidative Stress Of Human Sperm Cryopreservation*. *Antioxidants*, 14(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/Antiox14040402>
- Handoko, K. J., Ducha, N., & Purnomo, T. (2018). Pengaruh Macam Media Pengencer Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Tombro (*Cyprinus Carpio*) Selama Penyimpanan Pada Suhu 4-5°C *Effect Of Different Extender On Motility Of Common Carp (Cyprinus Carpio) Spermatozoa During Short-Term Preservation*.
- Hastuti, D. W. B., & Riviani. (2020). Efektifitas Penggunaan Jenis Ekstender Dan Dosis Madu Berbeda Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Sperma Ikan Nilem (*Osteochilus vittatus*) Setelah Penyimpanan. *Jurnal Airaha*, 1x(2), 122–129. <https://doi.org/10.15578/Ja.V9i02.183>
- Hidayaturrahmah. (2007). Waktu Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L.) Pada Beberapa Konsentrasi Larutan. 4, 9–18.
- Ho, Y., Yeol, J., Young, I., Zidni, I., & Kyu, H. (2021). Effects Of Cryoprotective Agents And Treatment Methods On Sperm Cryopreservation Of Stone Flounder, *Kareius bicoloratus*. *Aquaculture*, 531(April 2020), 735969. <https://doi.org/10.1016/J.Aquaculture.2020.735969>
- Kusumawardani, E. (2023). Perbedaan Kualitas Sperma Setelah Pemberian Ekstrak Air Daun Tin (*Ficus carica* Linn) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Timbal Asetat. 6, 1–11.
- Lim, H. K., Irfan, Z., Lee, H. Bin, Song, J. H., & Lee, Y. H. (2021). *Effect Of Diluent Variation On Cryopreservation Of Large Yellow Croaker Larimichthys crocea*. *Fisheries And Aquatic Sciences*, 24(2), 63–77. <https://doi.org/10.47853/Fas.2021.E7>
- Maulida, S., Nur, F. M., Eriani, K., & Muchlisin, Z. A. (2020). Tinjauan Kepustakaan Tentang Pengembangan Kriopreservasi Sperma Ikan Asli Indonesia. 9(April), 141–150. <https://doi.org/10.13170/Depik.9.2.16572>
- Miranda, A. S., Suprayogi, T. W., & Utomo, B. (2023). *Original Article Impact Of Green Tea (Camellia sinensis) Leaf Extract In Skim Milk-Goose Egg Yolk Semen Extender On The Quality Of Sapudi Ram Spermatozoa Stored At 5 ° C*. 3, 148–156. <https://doi.org/10.20473/Ovz.V12i3.2023.148-156>
- Pertiwi, P., & Abinawanto. (2024). *Pengaruh Pemberian Kuning Telur Terhadap Viabilitas Sperma Ikan Lukas (Puntius Bramoides Val) Pascakriopreservasi*. 3(11), 2744–2748.
- Rahardja, B. S., Mubarak, A. S., & Rini, P. S. (2010). Penambahan Ekstender Madu Dalam Proses Penyimpanan Sperma Beku Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Komet (*Carassius auratus auratus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 2(2), 185–191. <https://doi.org/10.20473/Jipk.V2i2.11649>
- Setiaji, A., & Annisa, R. R. (2020). Pemanfaatan Kriopreservasi Untuk Penyimpanan Bibit Anggrek

- Sholihin, A., & Ducha, N. (2024). Pengaruh Kemangi (*Ocimum Basilicum*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus Musculus*) Yang Diberikan Paparan Asap Rokok. *Lenterabio : Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2), 289–299. <https://doi.org/10.26740/Lenterabio.V13n2.P289-299>
- Suhendra, D., & Hernosa. (2018). Efek Penyimpanan Secara Kriopreservasi Pada Jenis Dan Lama Perendaman Krioprotektan Dengan Perbedaan Kondisi Biji Terhadap Viabilitas Benih Manggis (*Garcinia Mangostana L.*). 5(2), 19–25.
- Suminto, Anggun, D., Sani, P., & Susilowati, T. (2010). Prosentase Perbedaan Pengaruh Tingkat Kematangan Gonad Terhadap Fertilitas Dan Daya Tetas Telur Dalam Pembentukan Buatan Abalone (*Haliotis Asinina*) *Different Percentages Of Gonad Maturity On The Fertility And Hatching Rate In Artificial Breeding Of Abalone*. 6(1), 80–87.
- Vargas, L., Jiménez, M. S., González, Jennie Risopatrón Villalobos, E. F., Cabrita, E. I., & Isler, V. (2020). *Oxidative Stress And Use Of Antioxidants In Fish Semen Cryopreservation* Leydy Sandoval-Vargas. *Reviews In Aquaculture*, 13(1).
- Wiranto, A., Irawan, H., & Muzahar. (2021). Pengaruh Perbedaan Durasi Waktu Thawing Terhadap Tingkat Motilitas Dan Tingkat Viabilitas Sperma Beku Kerapu Kertang *Epinephelus Lanceolatus* Adi Wiranto 1, Henky Irawan 1, Muzahar 1. *Intek Akuakultur*, 5, 62–69. <https://doi.org/10.31629/Intek.V5i1.3060>
- Yeol, J., Zidni, I., Ho, Y., Bin, H., & Kyu, H. (2022). *Effect Of Long-Term Storage On The Quality Of Cryopreserved Sperm Of The Giant Grouper, Epinephelus Lanceolatus*. *Aquaculture*, 555(November 2021), 738154. <https://doi.org/10.1016/J.Aquaculture.2022.738154>
- Yonarta, D., Syaifudin, M., Taqwa, F. H., Fery, M., & Kusuma, A. (2022). Pengaruh Krioprotektan Dimetil Sulfoksida Dosis Berbeda Dalam Ekstender Madu Terhadap Kualitas Sperma Ikan Belida Selama Masa Penyimpanan. *Indonesian Journal Of Fisheries Science And Technology*, 18(2), 113–118. <https://doi.org/10.14710/Ijfst.18.2.113-118>
- Zidni, I., Kim, K., Jang, H., Heo, M., Kim, K., Yoon, J., & Lim, H. (2024). *Cryobiology Cryopreservation Of Sperm From The Gudgeon, Microphysogobio Rapidus (Cyprinidae): Effects Of Cryoprotectant, Diluents, And Dilution Ratio*. *Cryobiology*, 115(February), 104869. <https://doi.org/10.1016/J.Cryobiol.2024.104869>
- Zidni, I., Lee, Yun Ho, Park, Jung Yeol, Lee, Hyo Bin, Hur, Jun Wook, & Lim, Han Kyu. (2020). *Effects Of Cryoprotective Medium Composition, Dilution Ratio, And Freezing Rates On Spotted Halibut (Verasper Variegatus) Sperm Cryopreservation*. 1–16. <https://doi.org/10.3390/Ani10112153>
- Zidni, I., Seo, Y., & Lim, H. (2022). *Cryopreservation Of Roughscale Sole (Clidoderma Asperimurum) Sperm: Effects Of Cryoprotectant, Diluent, Dilution Ratio, And Thawing Temperature*.