Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

Peran dan Efektivitas Antioksidan dalam Kriopreservasi Sperma Ikan: Tinjauan Literatur

The Role and Effectiveness of Antioxidants in Fish Sperm Cryopreservation: A Literature Review

Yuli Andriani[1], Irfan Zidni[1], Michael Mahfud Jafar II[2]

[1] Departemen Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran
[2] Program Sarjana Perikanan Laut Tropis, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran
*Korespondensi:: michael22008@mail.unpad.ac.id

Copyright ©2026, Author. *Published by the Fisheries Science Study Program, Faculty of Science and Technology, Muhammadiyah University, Sidenreng Rappang, Article Info: Posted: October 16, 2026 Revised: October 22, 2026; Accepted: October 23, 2026; Published: October 25, 2026.*

Abstrak

Kriopreservasi sperma ikan merupakan teknologi reproduksi yang berperan penting dalam mendukung kegiatan pembenihan, pengelolaan induk, serta konservasi sumber daya genetik ikan. Namun, proses pendinginan, pembekuan, penyimpanan, dan pencairan kembali dapat menimbulkan kerusakan seluler (*cryoinjury*) akibat perubahan keseimbangan osmotik, pembentukan kristal es, gangguan fungsi mitokondria, dan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Akumulasi ROS yang tidak diimbangi oleh sistem pertahanan antioksidan dapat memicu stres oksidatif dan peroksidasi lipid sehingga menurunkan kualitas serta kemampuan fertilisasi sperma setelah pencairan. Artikel ini bertujuan meninjau mekanisme stres oksidatif selama kriopreservasi sperma ikan, mengidentifikasi jenis dan mekanisme kerja antioksidan, serta mengevaluasi efektivitasnya berdasarkan hasil penelitian pada berbagai spesies ikan air tawar dan laut. Kajian dilakukan melalui telaah literatur terhadap publikasi yang relevan dengan kriopreservasi atau preservasi sperma ikan, mekanisme oksidatif, dan penggunaan antioksidan, kemudian dianalisis secara deskriptif-komparatif berdasarkan spesies, jenis antioksidan, konsentrasi, formulasi medium, serta parameter kualitas sperma yang diamati. Hasil sintesis menunjukkan bahwa antioksidan, baik yang berasal dari sistem pertahanan endogen maupun yang ditambahkan secara eksogen, berpotensi membantu mempertahankan kualitas sperma melalui pengendalian ROS dan pengurangan kerusakan oksidatif. Berbagai senyawa, termasuk vitamin C, vitamin E, glutation, melatonin, dan antioksidan lainnya, telah dikaji dengan respons yang bervariasi terhadap motilitas, viabilitas, integritas membran, peroksidasi lipid, serta parameter reproduksi lainnya. Efektivitas antioksidan tidak bersifat universal karena dipengaruhi oleh spesies ikan, jenis dan konsentrasi senyawa, komposisi pengencer dan krioprotektan, serta kondisi pembekuan dan pencairan. Oleh karena itu, optimasi formulasi dan konsentrasi antioksidan serta evaluasi berbagai parameter biologis secara terpadu diperlukan untuk meningkatkan keberhasilan kriopreservasi sperma ikan.

Kata kunci: antioksidan, kriopreservasi, sperma ikan, stres oksidatif, kualitas sperma

Abstract

Fish sperm cryopreservation is an important reproductive technology for supporting hatchery production, broodstock management, and the conservation of fish genetic resources. However, cooling, freezing, storage, and thawing may cause cellular damage, commonly referred to as cryoinjury, through osmotic imbalance, ice crystal formation, mitochondrial dysfunction, and increased production of reactive oxygen species (ROS). Excessive ROS accumulation that exceeds the capacity of antioxidant defense systems can induce oxidative stress and lipid peroxidation, thereby reducing post-thaw sperm quality and fertilization capacity. This article aims to review the mechanisms of oxidative stress during fish sperm cryopreservation, identify the types and mechanisms of action of antioxidants, and evaluate their effectiveness based on studies involving various freshwater and marine fish species. The review was conducted by examining literature relevant to fish sperm cryopreservation or preservation, oxidative mechanisms, and antioxidant supplementation. The selected literature was analyzed descriptively and comparatively according to fish species, antioxidant type, concentration, extender formulation, and the sperm quality parameters assessed. The synthesis indicates that antioxidants, whether derived from

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

endogenous defense systems or introduced as exogenous supplements, may help maintain sperm quality by regulating ROS levels and reducing oxidative damage. Various compounds, including vitamins C and E, glutathione, melatonin, and other antioxidants, have been investigated, with varying responses in sperm motility, viability, membrane integrity, lipid peroxidation, and other reproductive parameters. However, antioxidant effectiveness is not universal, as it depends on fish species, compound type and concentration, extender and cryoprotectant composition, and freezing and thawing conditions. Therefore, optimizing antioxidant formulations and concentrations, together with the integrated assessment of multiple biological parameters, is necessary to improve the success of fish sperm cryopreservation.

Keywords*: antioxidants, cryopreservation, fish sperm, oxidative stress, sperm quality.*

PENDAHULUAN

Kriopreservasi merupakan metode penyimpanan sperma dalam keadaan beku pada suhu -196°C dalam nitrogen cair dimana terjadi reduksi aktivitas metabolisme tanpa mempengaruhi organel di dalam sel sehingga fungsi fisiologis, biologis, dan morfologis tetap ada dalam jangka waktu tertentu (Mangkunegara et al., 2019). Pada spermatozoa ikan, teknik ini umumnya dilakukan melalui tahapan pengenceran semen, penambahan bahan krioprotektan, pendinginan, pembekuan, penyimpanan pada suhu rendah, dan pencairan kembali sebelum digunakan untuk proses fertilisasi. Kriopreservasi sperma ikan telah berkembang sebagai salah satu teknologi reproduksi yang dapat mendukung penyimpanan materi genetik sekaligus mempermudah pemanfaatan gamet dalam kegiatan reproduksi terkontrol (Cabrita et al., 2010). Keberadaan kriopreservasi menjadi penting karena spermatozoa dari berbagai spesies ikan dapat disimpan dalam kondisi beku sehingga ketersediaan gamet tidak sepenuhnya bergantung pada waktu pemijahan alami (Maulida et al., 2020). Dengan demikian, kriopreservasi tidak hanya berperan sebagai metode penyimpanan spermatozoa, tetapi juga sebagai bagian dari strategi pengelolaan sumber daya genetik ikan untuk kebutuhan reproduksi dan konservasi.

Meskipun memiliki berbagai manfaat, keberhasilan kriopreservasi spermatozoa tidak hanya ditentukan oleh kemampuan mempertahankan sel dalam keadaan beku, tetapi juga oleh kemampuan mempertahankan kualitas spermatozoa setelah pencairan. Selama proses pembekuan dan pencairan, spermatozoa mengalami perubahan suhu, tekanan osmotik, komposisi lingkungan seluler, serta perubahan kondisi membran yang dapat mengganggu keseimbangan fisiologis sel. Perubahan selama tahapan *freezing* dan *thawing* dapat mengganggu homeostasis redoks spermatozoa dan meningkatkan kerentanan sel terhadap stres oksidatif (Sandoval-Vargas et al., 2021). Selain itu, proses pengenceran semen dapat mengurangi komponen *seminal plasma* yang secara alami berperan dalam sistem pertahanan antioksidan spermatozoa sehingga sel menjadi lebih rentan terhadap kerusakan oksidatif selama kriopreservasi (Cabrita et al., 2010). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa tantangan utama dalam kriopreservasi bukan hanya mempertahankan spermatozoa dalam keadaan beku, tetapi juga mengendalikan perubahan biokimia yang terjadi selama proses pembekuan dan pencairan.

Salah satu perubahan penting yang terjadi selama kriopreservasi adalah peningkatan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Menurut Li et al., (2018) ROS adalah spesies reaktif

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

yang menyebabkan kerusakan oksidatif secara fisiologis dapat terbentuk dalam sel, tetapi produksinya yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara proses oksidatif dan kapasitas sistem pertahanan antioksidan. Kebocoran elektron pada rantai transport elektron mitokondria merupakan salah satu sumber pembentukan ROS, termasuk *superoxide anion*, yang dalam kondisi tertentu dapat berkontribusi terhadap kerusakan sel spermatozoa (Aitken, 2017). Selama proses kriopreservasi, perubahan kondisi sel akibat pembekuan dan pencairan dapat meningkatkan tekanan oksidatif sehingga produksi ROS berpotensi melebihi kemampuan sistem antioksidan endogen dalam mempertahankan keseimbangan redoks (Sandoval-Vargas et al., 2021). Spermatozoa ikan juga memiliki membran plasma yang mengandung asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acids*/PUFA) dalam jumlah relatif tinggi sehingga struktur tersebut sangat rentan terhadap serangan oksidatif (Félix et al., 2020). Dengan demikian, peningkatan ROS selama *freezing* dan *thawing* menjadi salah satu faktor penting yang dapat menjelaskan terjadinya *cryoinjury* pada spermatozoa ikan.

Ketika konsentrasi ROS melebihi kapasitas pertahanan antioksidan, terjadi stres oksidatif yang dapat memicu rangkaian kerusakan pada berbagai komponen sel spermatozoa. Salah satu target utama ROS adalah lipid membran, yang dapat mengalami proses peroksidasi dan menghasilkan berbagai produk oksidatif yang selanjutnya mengganggu struktur serta fungsi membran plasma (Sandoval-Vargas et al., 2021). Akumulasi produk peroksidasi lipid dapat menurunkan fluiditas dan integritas membran, mengganggu fungsi protein membran, serta meningkatkan permeabilitas membran spermatozoa (Félix et al., 2020). Kerusakan membran tersebut selanjutnya dapat mengganggu kemampuan spermatozoa dalam mempertahankan keseimbangan ion dan kondisi fisiologis yang diperlukan untuk pergerakan sel. Pada saat yang sama, peningkatan ROS juga dapat berkaitan dengan gangguan fungsi mitokondria dan kerusakan komponen subseluler spermatozoa (Gallo et al., 2021). Oleh sebab itu, stres oksidatif selama kriopreservasi tidak dapat dipandang hanya sebagai perubahan kimiawi, tetapi sebagai mekanisme yang dapat memengaruhi integritas struktur dan fungsi spermatozoa secara menyeluruh.

Kerusakan oksidatif yang terjadi selama kriopreservasi dapat tercermin pada penurunan kualitas fungsional spermatozoa setelah proses *thawing*. Kerusakan membran plasma dapat menurunkan viabilitas dan kemampuan spermatozoa untuk mempertahankan fungsi fisiologisnya, sedangkan gangguan mitokondria dapat mengurangi ketersediaan energi yang diperlukan untuk mempertahankan pergerakan spermatozoa (Gallo et al., 2021). Selain kerusakan membran dan organel, stres oksidatif juga dapat memengaruhi integritas materi genetik sehingga spermatozoa yang tampak masih motil belum tentu sepenuhnya terbebas dari kerusakan pada tingkat subseluler (Aitken, 2017). Kondisi tersebut penting diperhatikan karena kerusakan DNA spermatozoa dapat berpotensi memengaruhi keberhasilan fertilisasi dan perkembangan embrio meskipun parameter motilitas masih menunjukkan nilai yang relatif baik. Dengan demikian, penilaian keberhasilan kriopreservasi perlu

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

mempertimbangkan tidak hanya motilitas spermatozoa, tetapi juga integritas membran, fungsi mitokondria, kerusakan oksidatif, serta kemampuan fertilisasi (Tvrdá et al., 2026)

Berdasarkan permasalahan tersebut, salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan adalah penambahan antioksidan ke dalam *extender* selama proses kriopreservasi. Antioksidan berfungsi membantu mengendalikan ROS melalui mekanisme penangkapan radikal bebas atau melalui dukungan terhadap sistem pertahanan antioksidan sel sehingga kerusakan oksidatif selama pembekuan dan pencairan dapat diminimalkan (Sandoval-Vargas et al., 2021). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa suplementasi antioksidan, seperti vitamin E dan vitamin C, dapat membantu mempertahankan kualitas spermatozoa setelah kriopreservasi, termasuk motilitas dan kemampuan fertilisasi pada spesies tertentu (Figueroa et al., 2015). Pemberian vitamin E pada *extender* juga dilaporkan memberikan efek protektif terhadap kualitas dan kemampuan fertilisasi spermatozoa ikan setelah proses *freezing-thawing* (Bozkurt et al., 2021). Namun, efektivitas antioksidan tidak selalu sama pada setiap spesies karena karakteristik spermatozoa, komposisi *extender*, konsentrasi antioksidan, serta kondisi pembekuan dapat memengaruhi respons terhadap suplementasi (Chelewani et al., 2024). Oleh karena itu, kajian mengenai peran dan efektivitas antioksidan dalam kriopreservasi sperma ikan diperlukan untuk memahami mekanisme perlindungannya sekaligus mengidentifikasi penggunaannya dalam mempertahankan kualitas spermatozoa setelah proses pembekuan dan pencairan.

Meskipun berbagai penelitian telah mengkaji penggunaan antioksidan untuk mempertahankan kualitas sperma ikan selama penyimpanan dan kriopreservasi, hasil penelitian masih tersebar pada berbagai spesies, jenis antioksidan, formulasi *cryomedium*, dan parameter evaluasi yang berbeda, sehingga efektivitasnya sulit dibandingkan secara langsung. Kajian terdahulu juga perlu diintegrasikan secara lebih sistematis untuk menghubungkan mekanisme perlindungan antioksidan terhadap stres oksidatif dengan perubahan kualitas spermatozoa pasca-*thawing* serta keberhasilan reproduksi. Selain itu, perbedaan antara penelitian kriopreservasi dan penyimpanan dingin perlu diperhatikan agar kesimpulan mengenai efektivitas antioksidan didasarkan pada konteks perlakuan yang sesuai. Oleh karena itu, kontribusi ilmiah kajian ini terletak pada sintesis komparatif yang menghubungkan jenis dan mekanisme kerja antioksidan dengan efektivitasnya dalam mempertahankan kualitas sperma ikan, sekaligus mengidentifikasi faktor-faktor yang memengaruhi respons spermatozoa dan keterbatasan bukti penelitian yang tersedia. Sintesis tersebut diharapkan dapat memperjelas potensi berbagai antioksidan sebagai komponen pendukung formulasi *cryomedium* serta menjadi dasar bagi pengembangan penelitian kriopreservasi sperma ikan pada masa mendatang.

Kajian literatur ini bertujuan untuk menganalisis jenis, mekanisme kerja, dan efektivitas berbagai antioksidan dalam mempertahankan kualitas sperma ikan setelah proses thawing. Analisis mencakup berbagai kelompok antioksidan, baik berupa senyawa murni maupun bahan alami, serta mekanisme perlindungannya terhadap kerusakan oksidatif yang terjadi selama proses pembekuan dan

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

pencairan. Efektivitas antioksidan dikaji berdasarkan kemampuannya dalam mempertahankan berbagai parameter kualitas spermatozoa, meliputi motilitas, viabilitas, integritas membran, fungsi mitokondria, tingkat reactive oxygen species (ROS), peroksidasi lipid, integritas DNA, serta keberhasilan fertilisasi dan penetasan. Melalui kajian tersebut, diharapkan dapat diperoleh pemahaman mengenai faktor-faktor yang memengaruhi efektivitas antioksidan dan potensinya sebagai komponen pendukung dalam formulasi cryomedium untuk meningkatkan keberhasilan kriopreservasi sperma ikan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *literature review* untuk mengidentifikasi, mengkaji, dan mensintesis informasi ilmiah mengenai peran serta efektivitas antioksidan dalam kriopreservasi sperma ikan. Literatur diperoleh dari berbagai sumber publikasi ilmiah yang relevan, terutama artikel penelitian dan artikel ulasan yang membahas kriopreservasi sperma ikan, *cryoinjury*, stres oksidatif, sistem pertahanan antioksidan, serta penggunaan senyawa atau bahan alami dalam cryomedium. Penelusuran literatur dilakukan pada September 2026 melalui Google Scholar, ScienceDirect, dan PubMed menggunakan kombinasi kata kunci *fish sperm cryopreservation*, *antioxidant*, *oxidative stress*, dan *fish sperm*. Literatur yang dipilih terutama berupa artikel penelitian dan tinjauan yang diterbitkan pada periode 2010–2026. Kriteria inklusi mencakup publikasi yang membahas kriopreservasi sperma ikan, stres oksidatif, antioksidan, dan kualitas spermatozoa, sedangkan kriteria eksklusi meliputi artikel duplikat, tidak relevan, atau tidak menyediakan informasi yang memadai. Seleksi dilakukan melalui pemeriksaan judul, abstrak, dan teks lengkap, dengan total 55 artikel ditemukan pada penelusuran awal dan 43 artikel digunakan dalam kajian. Data dianalisis secara deskriptif-komparatif berdasarkan jenis antioksidan, mekanisme kerja, parameter kualitas sperma, dan hasil penelitian.

Literatur yang diperoleh kemudian diseleksi berdasarkan kesesuaian dengan fokus kajian, relevansi terhadap kriopreservasi atau preservasi sperma ikan, serta ketersediaan informasi mengenai mekanisme oksidatif dan respons terhadap pemberian antioksidan. Literatur yang digunakan terutama berasal dari publikasi dalam rentang 10–15 tahun terakhir untuk memperoleh gambaran perkembangan penelitian yang relatif mutakhir, dengan beberapa sumber yang lebih lama tetap digunakan apabila memiliki relevansi dasar yang kuat terhadap konsep kriopreservasi, stres oksidatif, atau mekanisme antioksidan. Informasi dari setiap literatur diekstraksi dan dikelompokkan berdasarkan topik, meliputi sumber *cryoinjury*, perubahan sistem oksidatif selama *freeze-thaw*, sistem pertahanan antioksidan spermatozoa, mekanisme kerja antioksidan dalam kriomedium, serta bukti efektivitas berbagai antioksidan dan bahan alami terhadap kualitas sperma ikan.

Analisis dilakukan secara deskriptif-komparatif dengan membandingkan temuan antar penelitian berdasarkan jenis ikan, jenis antioksidan atau bahan alami, konsentrasi atau dosis, komposisi ekstender dan krioprotektan, serta parameter kualitas sperma yang diamati. Parameter yang menjadi perhatian

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

meliputi motilitas, viabilitas, integritas membran, aktivitas atau fungsi mitokondria, tingkat reactive oxygen species (ROS), produk peroksidasi lipid seperti malondialdehyde (MDA), integritas DNA, fertilisasi, dan penetasan. Efektivitas antioksidan disintesis secara deskriptif dengan mempertimbangkan arah perubahan parameter, perbandingan terhadap kontrol, signifikansi statistik apabila tersedia, dan konsistensi hasil antarpenelitian. Hasil kajian selanjutnya disintesis untuk mengidentifikasi pola mekanisme kerja antioksidan, faktor yang memengaruhi efektivitasnya, serta keterbatasan penerapannya dalam kriopreservasi sperma ikan. Pendekatan tersebut digunakan untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai potensi antioksidan sebagai komponen pendukung kriomedium dan arah penelitian yang masih perlu dikembangkan.

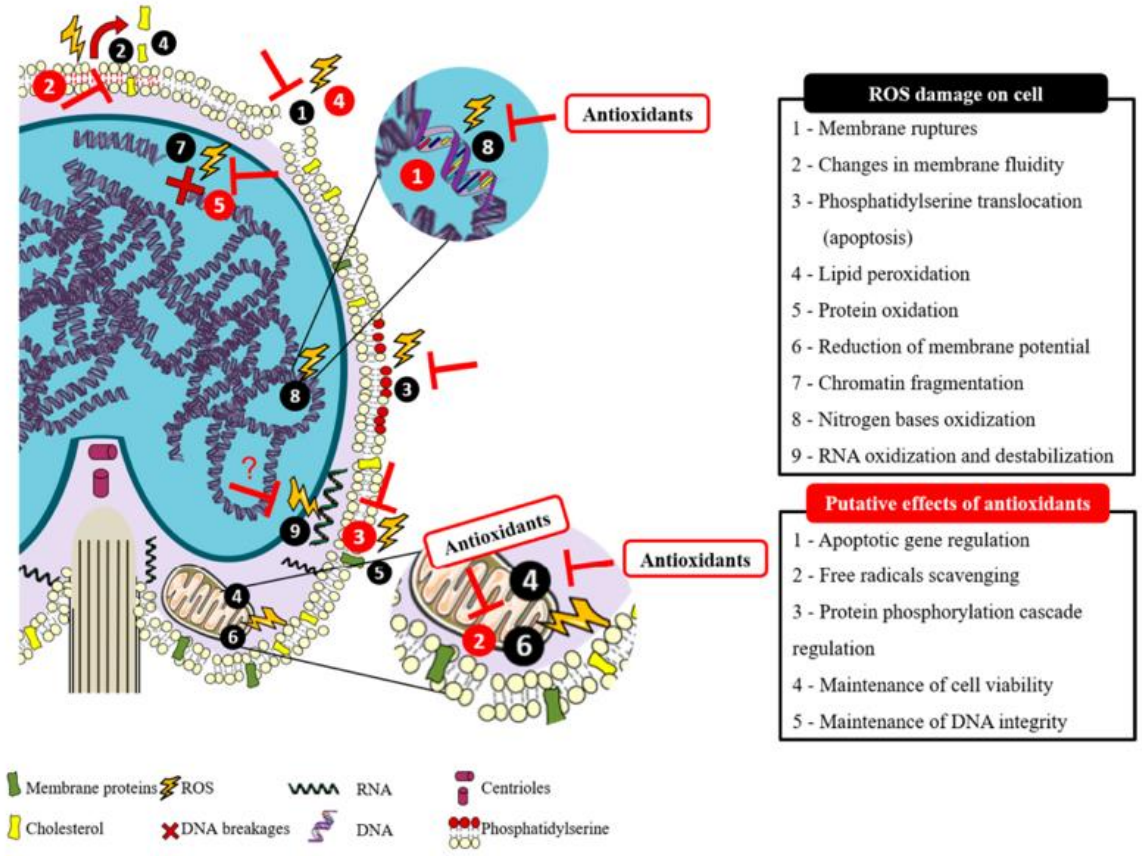
HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme stres oksidatif selama kriopreservasi

Proses kriopreservasi menyebabkan spermatozoa mengalami perubahan lingkungan yang sangat berbeda dibandingkan kondisi fisiologis normal, terutama selama tahapan pendinginan, pembekuan, penyimpanan, dan pencairan kembali. Perubahan suhu tersebut dapat memengaruhi organisasi membran, keseimbangan air dan zat terlarut, serta fungsi organel spermatozoa sehingga meningkatkan risiko terjadinya *cryoinjury* (Sieme et al., 2015). Gangguan terhadap struktur dan fungsi sel selama proses *freeze-thaw* juga dapat memengaruhi keseimbangan antara pembentukan ROS (Félix et al., 2020). Kondisi tersebut menjadi penting karena ROS dalam jumlah fisiologis masih diperlukan untuk beberapa proses seluler, sedangkan peningkatan konsentrasinya dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada spermatozoa (Kowalczyk, 2022). Dengan demikian, perubahan kondisi selama kriopreservasi dapat menciptakan lingkungan yang mendukung peningkatan tekanan oksidatif dan menjadi awal dari rangkaian kerusakan seluler yang lebih kompleks.

Salah satu sumber ROS yang berkaitan dengan kondisi tersebut adalah mitokondria spermatozoa (Gualtieri et al., 2021). Mitokondria berperan dalam menghasilkan energi melalui proses fosforilasi oksidatif, tetapi pada saat yang sama aktivitas rantai transfer elektron dapat menghasilkan ROS sebagai produk samping metabolisme (Gallo et al., 2021). Ketika fungsi rantai transfer elektron terganggu selama proses *freeze-thaw*, efisiensi transfer elektron dapat menurun dan sebagian elektron dapat mengalami kebocoran sehingga meningkatkan pembentukan ROS (Alevra et al., 2022). Kerusakan atau perubahan fungsi mitokondria selanjutnya dapat menciptakan kondisi yang memungkinkan produksi ROS semakin meningkat dan memperbesar tekanan oksidatif pada spermatozoa (Gallo et al., 2021). Selain sumber yang berasal dari metabolisme sel, keberadaan oksigen dalam lingkungan selama proses manipulasi spermatozoa juga menyediakan substrat yang memungkinkan berlangsungnya reaksi oksidatif, terutama ketika sistem pertahanan antioksidan sel mengalami penurunan kapasitas (Félix et al., 2020).

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*



Gambar 1. Dugaan efek antioksidan dalam menangkal kerusakan akibat spesies oksigen reaktif (ROS) pada sperma ikan (Félix et al., 2020).

Pada Gambar 1. tersebut memberikan gambaran dugaan mekanisme kerusakan sel spermatozoa akibat ROS, yang dapat menyerang berbagai komponen sel, mulai dari membran plasma, protein, mitokondria, hingga materi genetik berupa DNA dan RNA. Kerusakan tersebut dapat memicu perubahan fluiditas membran, peroksidasi lipid, fragmentasi kromatin, serta penurunan potensial membran yang mengganggu fungsi dan kelangsungan hidup sel. Pada gambar juga ditunjukkan bahwa antioksidan berpotensi menghambat dampak ROS melalui penangkapan radikal bebas, pengaturan proses persinyalan sel, serta pemeliharaan viabilitas dan integritas DNA

Peningkatan ROS kemudian menjadi lebih berbahaya karena karakteristik membran spermatozoa ikan yang kaya akan asam lemak tak jenuh ganda atau PUFA (Gualtieri et al., 2021). PUFA memiliki sejumlah ikatan rangkap yang menyebabkan molekul tersebut lebih mudah mengalami serangan radikal bebas dibandingkan asam lemak jenuh, sehingga membran spermatozoa menjadi sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif (Félix et al., 2020). Kerentanan tersebut menyebabkan peningkatan ROS selama kriopreservasi dapat menginisiasi reaksi berantai pada lipid membran yang dikenal sebagai peroksidasi lipid (Kowalczyk, 2022). Peroksidasi lipid selanjutnya menghasilkan berbagai produk oksidatif yang dapat mengubah karakteristik fisik dan fungsi membran spermatozoa

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

sehingga kemampuan sel dalam mempertahankan kondisi internalnya menjadi terganggu (Félix et al., 2020). Oleh karena itu, tingginya kandungan PUFA bukan hanya merupakan karakteristik struktural spermatozoa ikan, tetapi juga menjadi salah satu alasan mengapa sel tersebut memiliki kerentanan yang tinggi terhadap stres oksidatif selama kriopreservasi.

Peroksidasi lipid yang berlangsung secara berlebihan merupakan salah satu mekanisme penting yang menghubungkan peningkatan ROS dengan kerusakan membran spermatozoa selama kriopreservasi. Serangan radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh pada membran dapat menghasilkan rangkaian reaksi oksidatif yang mengubah susunan lipid serta karakteristik fisik membran spermatozoa (Da Costa & Streit Jr, 2019). Perubahan komposisi dan fase lipid selama proses pendinginan dan pembekuan juga dapat memengaruhi fluiditas serta stabilitas membran, sehingga spermatozoa menjadi lebih rentan terhadap kerusakan ketika mengalami perubahan suhu yang cepat (Sieme et al., 2015). Pada spermatozoa ikan, kondisi tersebut menjadi semakin penting karena membrannya memiliki karakteristik lipid yang sensitif terhadap oksidasi, sementara pengenceran semen dapat mengurangi sebagian perlindungan yang sebelumnya diberikan oleh komponen seminal plasma (Cabrita et al., 2010). Akumulasi produk peroksidasi selanjutnya dapat meningkatkan permeabilitas membran, mengganggu fungsi protein membran, dan menurunkan kemampuan spermatozoa mempertahankan homeostasis setelah proses *thawing* (Sandoval-Vargas et al., 2021).

Gangguan membran yang dihasilkan oleh peroksidasi lipid selanjutnya dapat berkembang menjadi kerusakan pada berbagai komponen seluler. Perubahan membran plasma dapat mengganggu keseimbangan ion dan perpindahan zat yang diperlukan untuk mempertahankan kondisi fisiologis spermatozoa, sehingga perubahan integritas membran dapat berhubungan dengan penurunan viabilitas dan fungsi sel setelah pencairan (Liu et al., 2007). Kerusakan yang terjadi selama kriopreservasi juga tidak selalu terbatas pada membran plasma karena perubahan struktur spermatozoa dapat mencakup bagian kepala, *midpiece*, dan flagelum, yang masing-masing memiliki fungsi berbeda dalam mempertahankan kemampuan reproduktif sel (Hossen et al., 2021). Evaluasi spermatozoa hasil kriopreservasi karena itu perlu mempertimbangkan bahwa kerusakan morfologis dapat tetap terjadi meskipun sebagian spermatozoa masih menunjukkan motilitas setelah *thawing* (Lim et al., 2021). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa integritas membran dan struktur seluler merupakan komponen yang saling berkaitan dalam menentukan kualitas spermatozoa pascakriopreservasi.

Kerusakan oksidatif berikutnya dapat memengaruhi mitokondria yang merupakan organel utama dalam penyediaan energi bagi aktivitas spermatozoa. Mitokondria tidak hanya berperan dalam produksi energi, tetapi juga merupakan salah satu lokasi penting yang berkaitan dengan pembentukan dan pengendalian ROS di dalam sel, sehingga gangguan fungsi mitokondria dapat memperkuat ketidakseimbangan redoks (Gallo et al., 2021). Perubahan kondisi membran dan lingkungan sel selama proses *freeze-thaw* dapat mengganggu fungsi mitokondria dan berpotensi menurunkan efisiensi

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

produksi energi yang diperlukan untuk mempertahankan aktivitas flagelum (Alevra et al., 2022). Hubungan antara aktivitas mitokondria, status oksidatif, dan motilitas menunjukkan bahwa perubahan fungsi energi dapat tercermin pada kemampuan spermatozoa untuk mempertahankan gerakan setelah pencairan (Palhares et al., 2021). Dengan demikian, kerusakan membran dan gangguan mitokondria tidak dapat dipandang sebagai dua kejadian yang sepenuhnya terpisah karena perubahan pada satu komponen dapat memperburuk kondisi komponen lainnya selama kriopreservasi.

Gangguan fungsi mitokondria kemudian memiliki konsekuensi terhadap ketersediaan energi seluler yang diperlukan untuk pergerakan spermatozoa. Aktivitas flagelum membutuhkan suplai energi yang memadai, sehingga perubahan fungsi mitokondria dapat berkontribusi terhadap penurunan kemampuan spermatozoa mempertahankan motilitas progresif setelah proses pencairan (Figueroa et al., 2015). Bukti eksperimental pada ikan menunjukkan bahwa perubahan kondisi oksidatif selama kriopreservasi dapat berkaitan dengan perubahan fungsi spermatozoa dan keberhasilan reproduktif, sehingga evaluasi kualitas tidak cukup dilakukan hanya berdasarkan keberadaan gerakan sel (Liu et al., 2007). Pada *brown trout* (*Salmo trutta macrostigma*), Bozkurt et al., (2021) melaporkan bahwa suplementasi vitamin E sebesar 1,0 mM pada *extender* memberikan hasil terbaik dalam mempertahankan motilitas, viabilitas, kemampuan fertilisasi, dan integritas DNA sperma pasca *thawing* dibandingkan konsentrasi 0,1 dan 0,5 mM serta kelompok kontrol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa vitamin E berpotensi melindungi spermatozoa dari kerusakan selama kriopreservasi. Oleh karena itu, gangguan metabolisme energi perlu ditempatkan sebagai salah satu tahapan penting dalam hubungan mekanistik antara stres oksidatif, kerusakan subseluler, dan penurunan kemampuan gerak spermatozoa.

Selain memengaruhi membran dan mitokondria, kerusakan selama kriopreservasi dapat melibatkan struktur kepala spermatozoa dan materi genetik yang terdapat di dalamnya. Integritas DNA merupakan salah satu parameter penting karena spermatozoa dengan motilitas yang masih relatif baik dapat tetap mengalami kerusakan molekuler yang tidak langsung terlihat melalui pengamatan gerak sel (Xin et al., 2019). Kondisi tersebut menjelaskan mengapa evaluasi pascakriopreservasi perlu mencakup parameter molekuler selain motilitas dan viabilitas, terutama ketika tujuan penggunaan sperma adalah fertilisasi dan produksi keturunan (Aitken, 2017). Penelitian mengenai kriopreservasi sperma ikan juga menunjukkan bahwa perubahan formulasi diluen dan krioprotektan dapat menghasilkan tingkat kerusakan serta kualitas pascathawing yang berbeda, sehingga kerusakan struktural dan molekuler perlu dipahami dalam konteks keseluruhan protokol kriopreservasi (Orfão et al., 2011). Dengan demikian, keberadaan spermatozoa yang masih hidup setelah *thawing* belum secara otomatis menunjukkan bahwa seluruh komponen sel berada dalam kondisi fungsional yang optimal.

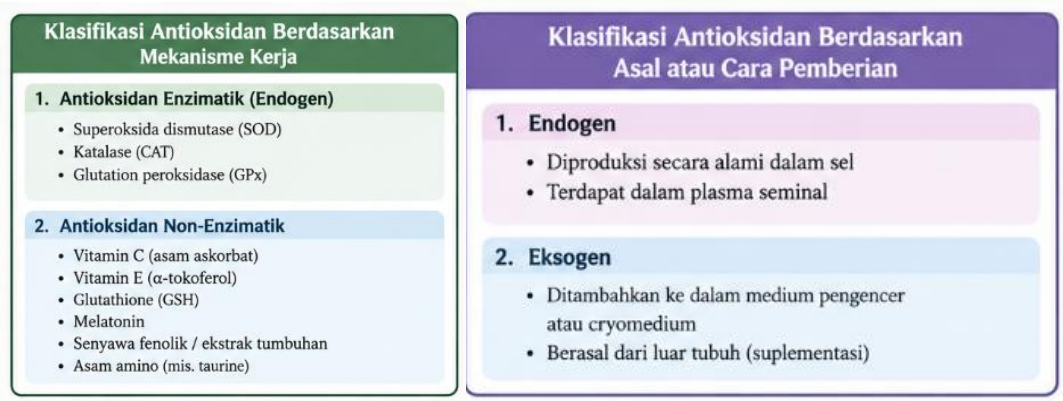
Rangkaian kerusakan membran, mitokondria, dan struktur spermatozoa tersebut pada akhirnya dapat tercermin melalui penurunan motilitas. Motilitas merupakan parameter fungsional yang sangat penting karena mencerminkan kemampuan spermatozoa mempertahankan aktivitas gerak setelah

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

mengalami tekanan fisik dan kimia selama proses pembekuan dan pencairan (Hossen et al., 2021). Namun, motilitas tidak berdiri sendiri karena performanya dipengaruhi oleh integritas membran, kondisi struktur flagelum, ketersediaan energi, serta status oksidatif spermatozoa (Gallo et al., 2021). Perbedaan komposisi ekstender, osmolalitas, krioprotektan, dan rasio pengenceran juga dapat menghasilkan respons motilitas yang berbeda antarspesies, sehingga penurunan motilitas tidak dapat selalu dikaitkan hanya dengan satu mekanisme kerusakan (Yang & Tiersch, 2009). Hal tersebut memperkuat pentingnya mengevaluasi motilitas bersama parameter lain seperti viabilitas, integritas membran, kerusakan DNA, dan keberhasilan fertilisasi untuk memperoleh gambaran kualitas spermatozoa yang lebih menyeluruh (Cabrita et al., 2010).

Klasifikasi antioksidan dalam kriopreservasi sperma ikan

Antioksidan dalam kriopreservasi sperma ikan dapat diklasifikasikan berdasarkan dua dasar yang berbeda, yaitu mekanisme kerja dan asal atau cara pemberiannya. Berdasarkan mekanisme kerja, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan enzimatik, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutation peroksidase (GPx), serta antioksidan non-enzimatik, seperti vitamin C, vitamin E, glutathione, melatonin, dan senyawa fenolik (Félix et al., 2021). Sementara itu, berdasarkan asal atau cara pemberiannya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan endogen, yaitu senyawa yang secara alami diproduksi atau terdapat di dalam sel, dan antioksidan eksogen, yaitu senyawa yang diperoleh dari luar tubuh atau ditambahkan ke dalam medium pengencer maupun *cryomedium*. Dengan demikian, istilah non-enzimatik tidak selalu berarti eksogen karena glutathione, misalnya, merupakan antioksidan non-enzimatik yang secara alami terdapat di dalam sel, tetapi juga dapat ditambahkan dari luar sebagai perlakuan selama kriopreservasi (Lahnsteiner & Mansour, 2010). Kedua klasifikasi tersebut saling melengkapi. Klasifikasi pertama menjelaskan bagaimana antioksidan bekerja, sedangkan klasifikasi kedua menjelaskan dari mana antioksidan berasal atau bagaimana antioksidan diberikan. Oleh karena itu, efektivitas antioksidan perlu dinilai dengan mempertimbangkan jenis senyawa, mekanisme kerja, asal atau cara pemberian, serta bukti eksperimental yang tersedia.



Gambar 2. Klasifikasi Antioksidan dalam Kriopreservasi Sperma

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

Antioksidan enzimatik

Antioksidan enzimatik merupakan bagian dari sistem pertahanan spermatozoa yang berfungsi mengendalikan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dan mempertahankan keseimbangan redoks selama proses reproduksi serta penyimpanan semen. Sistem ini terutama melibatkan superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan *glutathione peroxidase* (GPx), yang memiliki fungsi berbeda dalam mengendalikan senyawa oksigen reaktif (Lahnsteiner & Mansour, 2010). SOD mengkatalisis perubahan radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida, sedangkan CAT dan GPx membantu menguraikan peroksida agar tidak terakumulasi dan memicu kerusakan oksidatif (Pompella et al., 2003). Dengan demikian, ketiga enzim tersebut bekerja sebagai rangkaian pertahanan yang saling melengkapi, sehingga efektivitasnya perlu dinilai berdasarkan keterkaitan fungsi setiap komponen, bukan hanya aktivitas salah satu enzim.

Peran sistem antioksidan endogen menjadi penting dalam kriopreservasi karena proses pembekuan dan pencairan dapat mengganggu keseimbangan redoks serta meningkatkan risiko kerusakan pada struktur dan fungsi spermatozoa. Penelitian mengenai sistem antioksidan semen ikan menunjukkan adanya enzim pertahanan oksidatif, termasuk SOD, katalase, dan peroksidase, dengan pola aktivitas yang dapat berbeda antarkomponen dan spesies ikan(Lahnsteiner & Mansour, 2010). Selain itu, penelitian pada sperma ikan trout menunjukkan bahwa penambahan antioksidan tertentu ke dalam medium kriopreservasi tidak selalu memberikan peningkatan kualitas yang seragam pada semua parameter yang diukur (Lahnsteiner et al., 2000). Temuan tersebut menunjukkan bahwa kapasitas perlindungan endogen dan respons terhadap perlakuan antioksidan perlu dipahami berdasarkan spesies, kondisi penyimpanan, serta parameter biologis yang digunakan untuk menilai kualitas sperma.

Keterbatasan sistem antioksidan endogen menjadi salah satu alasan untuk mengevaluasi penggunaan antioksidan eksogen sebagai pelengkap perlindungan spermatozoa selama kriopreservasi. Plasma seminal mengandung berbagai komponen antioksidan, tetapi pengenceran semen dan perubahan lingkungan selama penyimpanan dapat memengaruhi perlindungan yang tersedia bagi spermatozoa (Cabrita et al., 2010). Kajian mengenai antioksidan pada sperma ikan juga menekankan bahwa efektivitas suplementasi dipengaruhi oleh jenis senyawa, konsentrasi, spesies, serta formulasi medium yang digunakan (Félix et al., 2020). Oleh karena itu, evaluasi sistem endogen sebaiknya dilakukan bersama pengukuran ROS, peroksidasi lipid, motilitas, viabilitas, dan integritas membran agar hubungan antara aktivitas antioksidan dan kualitas spermatozoa dapat dianalisis secara lebih menyeluruh (Gallo et al., 2021).

Antioksidan non-enzimatik

Antioksidan non-enzimatik merupakan kelompok senyawa yang dapat ditambahkan ke dalam medium pengencer atau *cryomedium* untuk mendukung pertahanan alami spermatozoa terhadap stres

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

oksidatif. Kelompok ini meliputi vitamin, glutathione, asam amino, melatonin, senyawa fenolik, ekstrak tumbuhan, dan sejumlah antioksidan lain yang memiliki karakteristik kimia berbeda (Félix et al., 2020). Pada sperma ikan, vitamin C, vitamin E, dan *glutathione* termasuk komponen antioksidan non-enzimatik yang berkaitan dengan pemeliharaan keseimbangan redoks serta perlindungan struktur sel (Lahnsteiner & Mansour, 2010). Perbedaan sifat kimia dan mekanisme kerja tersebut menyebabkan setiap senyawa perlu dinilai secara terpisah berdasarkan fungsi yang ditargetkan dan bukti eksperimental yang tersedia.

Vitamin C atau asam askorbat merupakan antioksidan larut air, sedangkan vitamin E atau α-tokoferol bersifat larut lipid sehingga keduanya dapat bekerja pada lingkungan kimia yang berbeda. Perbedaan karakteristik tersebut menjadi dasar untuk mempertimbangkan peran vitamin C dalam fase berair dan vitamin E dalam perlindungan membran terhadap peroksidasi lipid (Figueroa et al., 2015). Penelitian mengenai suplementasi vitamin E pada semen ikan trout cokelat telah mengevaluasi kualitas sperma beku-cair dan kemampuan fertilisasinya pada berbagai formulasi pengencer (Bozkurt et al., 2021). Meskipun demikian, hasil suplementasi vitamin tidak dapat diasumsikan selalu menguntungkan karena respons dapat berubah menurut konsentrasi dan komposisi medium, sehingga setiap perlakuan perlu dinilai berdasarkan hasil pengujian biologisnya.

Glutathione (GSH) merupakan salah satu antioksidan non-enzimatik yang juga terdapat secara endogen. *Glutathione* adalah molekul reduktif yang berperan dalam pertahanan antioksidan dan berkaitan dengan aktivitas *glutathione* peroxidase dalam mereduksi senyawa peroksida. Sistem glutathione termasuk bagian dari mekanisme pertahanan sel terhadap tekanan oksidatif dan berperan dalam menjaga kondisi redoks seluler (Pompella et al., 2003). Penelitian tentang suplementasi *glutathione* dan senyawa reduktif lain pada semen ikan menunjukkan bahwa respons terhadap penambahan antioksidan dapat berbeda menurut spesies serta bentuk senyawa yang digunakan (Lahnsteiner et al., 2011). Oleh sebab itu, penggunaan GSH dalam kriopreservasi perlu dievaluasi melalui konsentrasi yang terukur dan parameter kualitas sperma yang relevan, bukan hanya berdasarkan fungsi reduktifnya secara teoritis.

Senyawa alami seperti polifenol dan flavonoid menjadi perhatian karena struktur kimianya memungkinkan terjadinya reaksi donor elektron atau atom hidrogen yang berperan dalam aktivitas antioksidan. Karakteristik senyawa fenolik dan aktivitas antioksidannya dipengaruhi oleh struktur molekul serta metode ekstraksi yang digunakan untuk memperoleh komponen bioaktif dari bahan tumbuhan (Dai & Mumper, 2010). Proses ekstraksi, termasuk pemilihan pelarut dan kondisi operasional, dapat mengubah jumlah serta komposisi senyawa fenolik yang berhasil diperoleh (Alara et al., 2021). Dengan demikian, penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai bahan tambahan *cryomedium* memerlukan standardisasi komposisi dan pengujian langsung pada sperma ikan agar aktivitas kimia ekstrak tidak keliru dianggap sebagai bukti efektivitas kriopreservasi.

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

Kurkumin merupakan senyawa polifenolik yang telah dikaji karena potensinya dalam memengaruhi proses oksidatif dan melindungi sel dari kerusakan yang berkaitan dengan ROS. Penelitian pada spermatozoa manusia melaporkan bahwa kurkumin dikaji dalam kaitannya dengan stres oksidatif dan kualitas sperma setelah kriopreservasi, tetapi konteks tersebut tidak secara langsung membuktikan efektivitasnya pada ikan (Santonastaso et al., 2021). Kajian lain juga menghubungkan kurkumin dengan jalur respons terhadap ROS pada spermatozoa manusia, sehingga temuan tersebut lebih tepat digunakan sebagai dasar mekanistik untuk penelitian lanjutan (Zhou et al., 2019). Oleh karena itu, penerapan kurkumin dalam kriopreservasi sperma ikan masih memerlukan validasi berdasarkan spesies, dosis, stabilitas dalam medium, serta hasil pengukuran kualitas sperma setelah pencairan.

Antioksidan sintetis seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) juga menjadi salah satu kandidat yang dapat dievaluasi dalam pengembangan formulasi kriopreservasi sperma ikan. Penelitian pada ikan depik (*Rasbora tawarensis*) mengkaji penggunaan antioksidan dalam proses kriopreservasi sebagai upaya untuk mempertahankan kualitas sperma setelah pencairan (Muchlisin et al., 2023). Kajian tentang antioksidan pada sperma ikan menegaskan bahwa efektivitas bahan tambahan perlu ditafsirkan dengan mempertimbangkan spesies, konsentrasi, dan kondisi medium yang digunakan (Félix et al., 2020). Dengan demikian, penggunaan BHT maupun antioksidan sintetis lainnya perlu didasarkan pada hasil eksperimen yang terukur dan tidak dapat digeneralisasikan hanya dari keberhasilan pada satu spesies atau satu formulasi.

Perbedaan mekanisme kerja antioksidan memberikan dasar untuk menguji kombinasi beberapa senyawa dalam satu formulasi *cryomedium*. Vitamin C dan vitamin E memiliki karakteristik kelarutan yang berbeda, sedangkan glutathione berperan dalam sistem reduktif yang terkait dengan pengendalian peroksida (Figueroa et al., 2015). Kajian antioksidan pada sperma ikan menunjukkan bahwa keberhasilan suatu senyawa bergantung pada berbagai faktor, termasuk konsentrasi, karakteristik spesies, dan kondisi penggunaannya selama penyimpanan (Félix et al., 2020). Oleh karena itu, kombinasi antioksidan perlu diuji melalui perbandingan antara perlakuan tunggal dan kombinasi serta pengukuran sejumlah parameter, seperti motilitas, viabilitas, integritas membran, dan indikator stres oksidatif, sehingga potensi sinergi dapat dinilai berdasarkan bukti eksperimen, bukan semata-mata berdasarkan dugaan mekanistik.

Parameter keberhasilan yang dipengaruhi antioksidan

1. Kualitas fungsional sperma

Kualitas fungsional spermatozoa pascakriopreservasi terutama dievaluasi melalui motilitas, kecepatan pergerakan, durasi motilitas, dan viabilitas sel karena parameter tersebut menggambarkan kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup dan bergerak setelah proses pembekuan serta pencairan kembali (Cabrita et al., 2010). Selama kriopreservasi, peningkatan ROS dapat memicu peroksidasi lipid

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

dan mengganggu fungsi membran maupun sistem metabolisme yang mendukung pergerakan spermatozoa (Sandoval-Vargas et al., 2021). Penambahan antioksidan berpotensi membantu mempertahankan fungsi tersebut dengan mengurangi tekanan oksidatif, tetapi besarnya respons dapat berbeda menurut jenis antioksidan, konsentrasi, dan spesies ikan yang digunakan (Lahnsteiner & Mansour, 2010). Pada ikan salmon Atlantik (*Salmo salar*), kombinasi α-tokoferol dan asam askorbat dalam medium pembekuan telah diteliti dalam kaitannya dengan fungsi spermatozoa dan kemampuan fertilisasinya setelah pencairan (Figueroa et al., 2015). Oleh karena itu, efektivitas antioksidan terhadap kualitas fungsional perlu ditentukan melalui pengukuran motilitas dan viabilitas secara bersamaan, bukan hanya berdasarkan peningkatan salah satu indikator (Liu et al., 2007).

2. Integritas struktural

Integritas struktural spermatozoa merupakan parameter penting karena membran plasma berperan dalam mempertahankan keseimbangan internal sel dan mendukung fungsi spermatozoa setelah proses kriopreservasi (Xin et al., 2019). Perubahan suhu dan tekanan osmotik selama pembekuan serta pencairan dapat mengganggu struktur membran, sedangkan stres oksidatif dapat memperburuk kerusakan melalui peroksidasi lipid membran (Martínez-Páramo et al., 2017). Keutuhan membran dapat dinilai menggunakan *Hypo-osmotic Swelling Test* (HOST), yang mengevaluasi respons membran spermatozoa terhadap kondisi hiposmotik sebagai indikator fungsional integritas membran (Cabrita et al., 2010). Selain membran plasma, pemeriksaan morfologi dan struktur spermatozoa dapat membantu mengidentifikasi kerusakan seluler yang tidak selalu terlihat melalui pengukuran motilitas saja (Lahnsteiner et al., 2000). Dengan demikian, penilaian efek antioksidan terhadap integritas struktural sebaiknya menggabungkan pengujian membran dan pemeriksaan morfologi yang relevan, serta tidak menganggap bahwa perbaikan motilitas secara otomatis menunjukkan pemulihan seluruh struktur sel (Sandoval-Vargas et al., 2021).

3. Kualitas genetik

Kriopreservasi dapat memengaruhi kualitas genetik sperma ikan melalui perubahan integritas DNA selama proses pembekuan dan pencairan. Pada ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*), (Zhang et al., 2024) menunjukkan bahwa proses kriopreservasi berkaitan dengan kerusakan DNA dan stres oksidatif, sedangkan penambahan dimetil sulfoksida (DMSO) membantu mengurangi kerusakan tersebut. Temuan serupa dilaporkan oleh Niu et al., (2022), yang mengidentifikasi penurunan integritas DNA sperma ikan *rockfish* hitam setelah kriopreservasi. Selain itu, penurunan integritas DNA pada sperma *Piaractus orinoquensis* setelah penyimpanan kriogenik selama enam bulan terjadi penurunan integritas DNA (Medina-Robles et al., 2023). Temuan-temuan tersebut menunjukkan bahwa integritas DNA perlu dipertimbangkan sebagai salah satu parameter dalam mengevaluasi kualitas sperma pascakriopreservasi

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

4. Tingkat fertilisasi dan daya tetas telur

Tingkat fertilisasi (*fertilization rate*) dan daya tetas telur (*hatching rate*) merupakan parameter reproduktif yang membantu menentukan apakah kualitas spermatozoa setelah kriopreservasi masih mampu mendukung pembuahan dan perkembangan embrio (Lahnsteiner et al., 2000). Pengukuran kedua parameter tersebut penting karena perubahan motilitas, viabilitas, atau integritas sel tidak selalu sejalan dengan keberhasilan fertilisasi dan penetasan pada setiap spesies maupun kondisi pengujian (Xin et al., 2019). Pada ikan *Osteochilus vittatus*, penelitian suplementasi *glutathione* menunjukkan bahwa konsentrasi antioksidan berkaitan dengan respons kualitas spermatozoa serta parameter reproduktif, termasuk fertilisasi dan penetasan (Muthmainnah et al., 2018). Pada *Prochilodus lineatus*, penelitian mengenai melatonin juga menunjukkan bahwa respons spermatozoa terhadap suplementasi perlu ditafsirkan berdasarkan konsentrasi dan parameter yang diukur, sehingga manfaatnya tidak dapat digeneralisasikan tanpa mempertimbangkan kondisi perlakuan (Motta et al., 2022). Oleh karena itu, efektivitas antioksidan sebaiknya disimpulkan berdasarkan gabungan indikator fungsional, struktural, genetik, dan reproduktif, dengan fertilisasi serta penetasan digunakan untuk menilai relevansi biologis hasil kriopreservasi (Ruan et al., 2024).

Efektivitas antioksidan pada berbagai ikan

Efektivitas antioksidan pada spermatozoa ikan menunjukkan pola yang spesifik terhadap spesies dan kondisi protokol. Pada ikan air tawar, penelitian pada *Salmonidae* dan *Cyprinidae* menunjukkan bahwa vitamin E dan glutathione dapat memperbaiki sejumlah parameter post-thaw, tetapi konsentrasi optimum berbeda antarspesies. Pada ikan air laut atau payau, perubahan osmolaritas dan karakteristik spermatozoa juga dapat memengaruhi respons terhadap antioksidan dan komponen kriomedium. Dengan demikian, hasil setiap penelitian perlu dibaca sebagai bukti pada kondisi eksperimental tertentu, bukan sebagai standar universal. Berikut beberapa penelitian yang memuat efektivitas antioksidan pada berbagai ikan Air Tawar dan Laut tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Efektivitas Antioksidan pada Berbagai Ikan Air Tawar dan Laut

Spesies ikan	Bahan/perlakuan dan konsentrasi	Hasil kuantitatif utama	Perbandingan dengan kontrol / signifikansi	Sumber
Brown trout (*Salmo trutta macrostigma*)	Vitamin E (α-tokoferol): 0; 0,1; 0,5; 1 mM	Pada ekstender, perlakuan 1 mM: motilitas pasca-thawing 62,4 ± 0,36%; fertilisasi 48,2 ± 0,84%; kerusakan DNA 7,245%.	Dilaporkan sebagai hasil terbaik dibanding konsentrasi lain dan kontrol ($p < 0,05$).	Bozkurt et al., (2021)
Osteochilus vittatus	*Glutathione* (GSH): 0; 10; 20; 30; 40; 50 mg/L	Motilitas tertinggi pada 30 mg/L: 63,00 ± 5,89%; fertilisasi tertinggi pada 50 mg/L: 51,33 ± 17,01%; penetasan 40,33 ± 12,89% pada 50 mg/L.	Peneliti menyimpulkan 40 mg/L sebagai konsentrasi optimum keseluruhan; penetasan pada 40 mg/L tidak berbeda nyata dari 50 mg/L.	(Muthmainnah et al., 2018)
Rasbora tawarensis	GSH, β-karoten, vitamin C, dan BHT. masing-masing 6%	Seluruh perlakuan dilaporkan memengaruhi motilitas, fertilisasi, dan penetasan secara nyata ($p < 0,05$). Nilai	GSH dilaporkan sebagai perlakuan terbaik; angka kontrol dan selisih kuantitatif belum terverifikasi di sini.	(Muchlisin et al., 2023)

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

		rerata per kelompok perlu diperiksa pada teks lengkap.		
Brycon orbignyanus	Melatonin: 0; 1; 2 mM; dua kurva pembekuan	Melatonin 2 mM dengan kurva pembekuan lambat dilaporkan memberi respons terbaik untuk peroksidasi lipid dan aktivitas SOD. Nilai tiap kelompok perlu dicek pada teks lengkap.	Artikel melaporkan perbaikan beberapa parameter sperma/fertilisasi;	(Palhares et al., 2021)
Prochilodus lineatus	Melatonin: 0; 2,00; 2,75; 3,50; 4,25 mM	2,00 mM menghasilkan motilitas, VCL, dan VAP lebih tinggi daripada konsentrasi melatonin lain. Nilai numerik per kelompok perlu diambil dari teks lengkap.	Menyatakan jangan menyatakan semua parameter meningkat terhadap kontrol jika uji statistik tidak mendukungnya.	(Motta et al., 2022)
Zebrafish (*Danio rerio*)	Optimasi extender/medium krioprotektif; bukan perlakuan antioksidan spesifik	Mengevaluasi formulasi medium dan prosedur fertilisasi dalam kriopreservasi sperma zebrafish, bukan bukti kuantitatif efektivitas antioksidan tertentu.	Tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan efektivitas antioksidan spesifik.	(Matthews et al., 2018)
Botia (*Chromobotia macracanthus*)	Madu: 0; 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7%; 0,9%, dikombinasikan dengan metanol 10%	Kombinasi madu 0,1% + metanol 10%: motilitas 89,4 ± 5,45%; viabilitas 85,75 ± 4,79%; fertilisasi 98,55 ± 1,69%.	Perlakuan nyata untuk viabilitas dan fertilisasi ($p < 0,05$), tetapi tidak untuk motilitas ($p > 0,05$).	(Abinawanto et al., 2020)
Spesies ikan	**Bahan/perlakuan dan konsentrasi**	**Hasil kuantitatif utama**	**Perbandingan dengan kontrol / signifikansi**	**Sumber**
Nilem (*Osteochilus vittatus*)	Ekstrak sambiloto: 0%; 3%; 6%; 9%; 12%. Penyimpanan 4 °C selama 48 jam	Viabilitas tertinggi pada 6%: 78,33 ± 2,51%; motilitas tertinggi pada 12%: 55,33 ± 12,24%.	Perbedaan motilitas antarkelompok tidak signifikan secara statistik.	(Anugrah et al., 2025)
Spotted halibut (*Verasper variegatus*)	GSH 8 mM; trehalosa 100 mM; Mito-TEMPO 100 µM	GSH 8 mM memberi motilitas sedikit lebih tinggi, trehalosa 100 mM menunjukkan hasil positif pada kelangsungan hidup dan parameter kinematika VCL/VSL. Mito-TEMPO membantu mempertahankan DNA dari fragmentasi.	Motilitas tertinggi diperoleh pada GSH 8 mM tetapi tidak berbeda nyata dengan beberapa perlakuan lain. Mito-TEMPO 100 µM menghasilkan persentase tail DNA sebesar tanpa perbedaan nyata dibandingkan trehalosa 100 mM	(Zidni et al., 2022)

Penelitian Anugrah et al. (2025) digunakan sebagai bukti pendukung preservasi dingin pada 4 °C, bukan sebagai bukti langsung efektivitas pada pembekuan kriogenik. Pada ikan air tawar, glutathione, vitamin E, dan melatonin menunjukkan bahwa perlindungan terhadap stres oksidatif dapat berkaitan dengan perbaikan motilitas dan sebagian endpoint reproduktif. Pada ikan laut, vitamin E dan C serta melatonin juga menunjukkan respons positif pada parameter tertentu, tetapi hasilnya tetap bergantung pada jenis medium, dosis, dan karakteristik spesies. Tabel tersebut menunjukkan bahwa efektivitas antioksidan sebaiknya dipahami berdasarkan parameter yang benar-benar diuji dalam setiap penelitian.

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

KESIMPULAN

Hasil literatur review menunjukkan bahwa suplementasi antioksidan berpotensi meningkatkan kualitas spermatozoa ikan pascakriopreservasi, terutama pada parameter motilitas, viabilitas, integritas membran, dan indikator stres oksidatif. Namun, efektivitasnya tidak seragam antarspesies karena dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi antioksidan, karakteristik spermatozoa, komposisi kriomedium, penggunaan krioprotektan, serta kondisi pembekuan dan pencairan. Temuan pada berbagai spesies menunjukkan bahwa keberhasilan suatu antioksidan dalam mempertahankan parameter kualitas sperma pada kondisi tertentu tidak dapat langsung digeneralisasi pada spesies atau protokol lain. Selain itu, peningkatan parameter kualitas sperma belum selalu menunjukkan keberhasilan fertilisasi dan penetasan yang lebih tinggi, sehingga efektivitas antioksidan perlu dinilai berdasarkan keterkaitan antara kualitas seluler dan hasil reproduksi.

Bukti penelitian yang tersedia masih memiliki keterbatasan berupa variasi metode, formulasi kriomedium, parameter evaluasi, serta cakupan spesies, sehingga perbandingan efektivitas antarpenelitian belum sepenuhnya seragam. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya perlu memprioritaskan penentuan konsentrasi optimum setiap antioksidan, pengujian kombinasi senyawa, dan standardisasi protokol kriopreservasi sesuai karakteristik spesies. Evaluasi juga perlu mengintegrasikan parameter motilitas, viabilitas, integritas membran, stres oksidatif, dan kerusakan DNA dengan tingkat fertilisasi serta daya tetas untuk memastikan manfaat biologisnya secara menyeluruh. Validasi pada skala pembenihan diperlukan untuk menilai konsistensi hasil dan kelayakan penerapan, sehingga kriopreservasi sperma berbasis antioksidan dapat dikembangkan secara lebih terukur untuk mendukung produksi benih, pengelolaan induk, dan konservasi plasma nutfah ikan.

DAFTAR PUSTAKA

Abinawanto, Musthofa, S. Z., Lestari, R., Bowolaksono, A., Biologi, D., Matematika, F., Alam, P., Indonesia, U., & Depok, K. (2020). *Pengaruh Larutan Madu Sebagai Krioprotektan Alami Terhadap Kualitas Sperma Ikan Botia (Chromobotia macracanthus Bleeker 1852)*. *20*(3), 205–216.

Aitken, R. J. (2017). *Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage*. *May*, 1039–1052. https://doi.org/10.1002/mrd.22871

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Current Research In Food Science Extraction Of Phenolic Compounds : A review. *Current Research in Food Science*, *4*(March), 200–214. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011

Alevra, A. I., Exadactylos, A., Mente, E., & Papadopoulos, S. (2022). *The Protective Role of Melatonin in Sperm Cryopreservation of Farm Animals and Human : Lessons for Male Fish Cryopreservation*.

Anugrah, D., Abinawanto, & Dewi, R. R. S. P. S. (2025). Application of Andrographis paniculata extract as a bioprotectant for short-term cold preservation of nilem (Osteochilus vittatus) spermatozoa Application of Andrographis paniculata extract as a bioprotectant for short-term cold

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

preservation of nilem (. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1550/1/012005

Bozkurt, Y., Yavas, I., Bucak, M. N., Kıran, T. R., & Gul, A. (2021). *Cryoprotective Effect of Vitamin E Supplementation of Different Extenders on Quality and Fertilizing Ability of Frozen-Thawed Brown Trout Sperm*. *19*(3), 171–177. https://doi.org/10.1089/bio.2020.0062

Cabrita, E., Sarasquette, C., S Martinez-Paramo, Robles, V., Beirao, J., Perez-Cerezales, S., & Heraez, M. P. (2010). *Review article Cryopreservation of fish sperm : applications and perspectives*. *26*, 623–635. https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01556.x

Chelewani, A. P., Takahashi, E., Nishimura, T., & Fujimoto, T. (2024). *Optimizing the post-thaw quality of cryopreserved masu salmon (Oncorhynchus masou) sperm: Evaluating the effects of antioxidant-supplemented extender*. *Vcl*.

Da Costa, B. B., & Streit Jr, D. P. (2019). *Estresse Oxidativo E Antipxidantes No De Semen De Peixes*. 93–109.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*. 7313–7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

Félix, F., Oliveira, C. C. V., & Cabrita, E. (2020). Antioxidants in Fish Sperm and the Potential Role of Melatonin. *Antioxidants*, *10*(1), 36. https://doi.org/10.3390/antiox10010036

Félix, F., Oliveira, C. C. V., & Cabrita, E. (2021). *Antioxidants in Fish Sperm and the Potential Role of Melatonin*.

Figueroa, E., Valdebenito, I., Zepeda, A. B., Figueroa, C. A., Dumorne, K., Castillo, R. L., & Farias, J. G. (2015). *Effects Of Cryopreservation On Mitochondria Of Fish Spermatozoa*.

Gallo, A., Esposito, M. C., Tosti, E., & Boni, R. (2021). *Sperm Motility , Oxidative Status , and Mitochondrial Activity : Exploring Correlation in Different Species*. 1–11.

Gualtieri, R., Kalthur, G., Barbato, V., Di Nardo, M., Adiga, S. K., & Talevi, R. (2021). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress caused by cryopreservation in reproductive cells. *Antioxidants*, *10*(3), 1–23. https://doi.org/10.3390/antiox10030337

Hossen, S., Kim, S. C., Cho, Y., & Kho, K. H. (2021). *Vital Analysis of Cryopreserved Sperm of Marbled Flounder , Pseudopleuronectes yokohamae*. *12*(June), 1–14. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.696737

Kowalczyk, A. (2022). The Role of the Natural Antioxidant Mechanism in Sperm Cells. *Reproductive Sciences*, 1387–1394. https://doi.org/10.1007/s43032-021-00795-w

Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., Urbanyi, B., & Weismann, T. (2000). *Cryopreservation Of Spermatozoa In Cyprinid Fishes*. *00*, 1477–1496.

Lahnsteiner, F., & Mansour, N. (2010). *A Comparative Study On Antioxidant Systems In Semen Of Species Of The Percidae , Salmonidae , Cyprinidae , And Lotidae For Improving Semen Storage Techniques*. *307*, 130–140. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.07.011

Li, R., Jia, Z., Trush, M. A., Creek, B., & Tech, V. (2018). *Defining ROS in Biology and Medicine*. *1*(1), 9–21. https://doi.org/10.20455/ros.2016.803.Defining

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

Liu, Q. H., Xiao, Z. Z., & Xu, S. H. (2007). *Marine Fish Sperm Cryopreservation and Quality Evaluation in Sperm Structure and Function*.

Mangkunegara, A. A. A., Dwinanti, S. H., & Syaifudin, M. (2019). *Pemanfaatan ,adu Sebagai Bahan*

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

Ekstender Untuk Kriopreservasi Sperma Ikan Gabus (Channa striata) The utilization of honey as extender for stripped snakehead (Channa striata) sperm cryopreservation. *7*(2), 123–134.

Martínez-Páramo, S., Horváth, Á., Labbé, C., Zhang, T., Robles, V., Herráez, P., Suquet, M., Adams, S., Viveiros, A., Tiersch, T. R., & Cabrita, E. (2017). Cryobanking of aquatic species Sonia. *Aquaculture*, 156–177. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.042.Cryobanking

Matthews, J. L., Murphy, J. M., Carmichael, C., Tiersch, T., Westerfield, M., & Varga, Z. M. (2018). *Changes to Extender, Cryoprotective Medium, and In Vitro Fertilization Improve Zebrafish Sperm Cryopreservation*. *15*(3), 279–290. https://doi.org/10.1089/zeb.2017.1521

Maulida, S., Nur, F. M., Eriani, K., & Muchlisin, Z. A. (2020). *Tinjauan kepustakaan tentang pengembangan kriopreservasi sperma ikan asli Indonesia A review on the cryopreservation development of sperm of the Indonesian native fish*. *9*(May), 141–150. https://doi.org/10.13170/depik.9.2.16572

Medina-Robles, V. M., Sandoval-Vargas, L. Y., Suárez-Martínez, R. O., Gómez-Ramírez, E., Guaje-Ramírez, D. N., & Cruz-Casallas, P. E. (2023). Cryostorage of white cachama (Piaractus orinoquensis) sperm: Effects on cellular, biochemical and ultrastructural parameters. *Aquaculture Reports*, *29*(June 2022). https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101477

Motta, N. C., Egger, R. C., Monteiro, K. S., Oliveira, A. V. De, & Murgas, L. D. S. (2022). *Theriogenology Effects Of Melatonin Supplementation On The Quality Of Cryopreserved Sperm In The Neotropical Fish Prochilodus lineatus*. *179*, 14–21. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.11.012

Muchlisin, Z. A., Afriani, D., Eriani, K., Hasri, I., Nur, F. M., Maulida, S., Handayani, L. S., Fadli, N., Kocabas, F. K., Siti-Azizah, M. N., & Wilkes, M. (2023). Improvement of Sperm Quality of the Depik Fish, Rasbora tawarensis , After Cryopreservation Using Antioxidant. *Cryoletters*, *44*(1), 13–19. https://doi.org/10.54680/fr23110110312

Muthmainnah, C. R., Eriani, K., Hasri, I., Irham, M., Batubara, A. S., & Muchlisin, Z. A. (2018). *Theriogenology Effect Of Glutathione On Sperm Quality After Short-term Cryopreservation In Seurukan Fish Osteochilus vittatus (Cyprinidae)*. *122*, 2018.

Niu, J., Wang, X., Liu, P., Liu, H., Li, R., Li, Z., He, Y., & Qi, J. (2022). Effects of Cryopreservation on Sperm with Cryodiluent in Viviparous Black Rockfish (Sebastes schlegelii). *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(6), 3392. https://doi.org/10.3390/ijms23063392

Orfão, L. H., Nascimento, A. F., Corrêa, F. M., Cosson, J., & Viveiros, A. T. M. (2011). Extender Composition , Osmolality And Cryoprotectant Effects On The Motility Of Sperm In The Brazilian Endangered Species Brycon Opalinus (Characiformes). *Aquaculture*, *311*(1–4), 241–247. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.041

Palhares, P. C., Assis, I. D. L., Machado, G. J., Freitas, R. M. P. De, Freitas, M. B. D. De, Paula, D. A. J., Carneiro, W. F., Motta, N. C., & Murgas, L. D. S. (2021). Theriogenology Sperm characteristics , peroxidation lipid and antioxidant enzyme activity changes in milt of Brycon orbignyanus cryopreserved with melatonin in different freezing curves. *Theriogenology*, *176*, 18–25. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.09.013

Ruan, Q., Yang, S., Hua, S., Zhang, W., Li, D., Yang, Y., Wang, X., Wang, Q., & Meng, Z. (2024). *Supplementation of Extender with Melatonin Improves the Motility, Mitochondrial Membrane Potential, and Fertilization Ability of Cryopreserved Brown-Marbled Grouper Sperm*.

Sandoval-Vargas, L., Silva Jiménez, M., Risopatrón González, J., Villalobos, E. F., Cabrita, E., & Valdebenito Isler, I. (2021). Oxidative stress and use of antioxidants in fish semen cryopreservation. *Reviews in Aquaculture*, *13*(1), 365–387. https://doi.org/10.1111/raq.12479

Santonastaso, M., Mottola, F., Iovine, C., Colacurci, N., & Rocco, L. (2021). *Protective Effects of*

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 6 No. 2 Oktober 2026 : 334-353
DOI: *https://doi.org/10.55678/jikan.v6i2.3234*

Curcumin on the Outcome of Cryopreservation in Human Sperm. 2895–2905.

Sieme, H., Oldenhof, H., & Wolkers, W. F. (2015). *Review Article Sperm Membrane Behaviour during Cooling and Cryopreservation Cryopreservation of Semen Use of In Situ FTIR to Study Biomolecular*. *c*, 20–26. https://doi.org/10.1111/rda.12594

Tvrdá, E., Omolaoye, T. S., Ďuračka, M., AlObeidli, F., & Du Plessis, S. S. (2026). Functional and Structural Determinants of Human Sperm Cryoresistance: Insights from Motility, Mitochondrial and Chromatin Integrity Analyses. *Cells*, *15*(16), 1–18. https://doi.org/10.3390/cells15161480

Xin, M., Niksirat, H., & Shaliutina-kole, A. (2019). *Molecular and Subcellular Cryoinjury Of Fish Spermatozoa And Approaches To Improve Cryopreservation*. 1–16. https://doi.org/10.1111/raq.12355

Yang, H., & Tiersch, T. R. (2009). *Current Status of Sperm Cryopreservation in Biomedical Research Fish Models: Zebrafish, Medaka, and Xiphophorus*. *2848*, 1–17. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.07.005.Current

Zhang, Y., Liu, D., Wang, Q., Ruan, Q., Hua, S., Zhang, W., Yang, S., & Meng, Z. (2024). Addition of Cryoprotectant DMSO Reduces Damage to Spermatozoa of Yellow Catfish (Pelteobagrus fulvidraco) during Cryopreservation: Ultrastructural Damage, Oxidative Damage and DNA Damage. *Animals*, *14*(18). https://doi.org/10.3390/ani14182652

Zhou, Q., Wu, X., Liu, Y., Wang, X., Ling, X., Ge, H., & Zhang, J. (2019). *Curcumin improves asthenozoospermia by inhibiting reactive oxygen species reproduction through nuclear factor erythroid 2-related factor 2 activation*. *October 2019*, 1–11. https://doi.org/10.1111/and.13491

Zidni, I., Lee, H. Bin, Yoon, J. H., Park, J. Y., Oh, Y. D., Jang, H. S., Cho, Y. S., Lee, I. Y., & Lim, H. K. (2022). Effect of antioxidants in cryopreservation media on spotted halibut (Verasfer variegatus) sperm quality during cryopreservation. *Aquaculture*, *557*(May), 738351. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738351

Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan
E-ISSN : 2776-9887
Vol. 5 No, 2 Oktober 2025 : 46-55