

Kualitas Semen Beku Babi Peranakan *Landrace* pada Berbagai Level Madu Dalam Pengencer Tris-Kuning Telur

(Quality of Frozen Semen of Landrace Crossbred Boars at Different Levels of Honey in a Tris–Egg Yolk Extender)

Maria Meldiana Jemamu*, Wilmientje Marlene Nalley, Yustiany Yuliana Bette, Thomas Mata Hine

Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jln. Adisucipto Penfui, Kupang 85001

*Korespondensi Email: jemamumeldiana@gmail.com

ABSTRACT

Information regarding the optimal concentration of honey in Tris-egg yolk extender to maintain the quality of frozen boar semen remains limited. This study aimed to evaluate the effect of honey supplementation on the quality of frozen semen of landrace crossbred boars. Honey was selected due to its antioxidant properties and its role as an energy source (glucose and fructose), which may protect spermatozoa from cryodamage during the freezing process. This experiment applied a completely randomized design with five treatments and four replications. Semen was collected from four landrace crossbred boar aged -2,5 years with $\geq 75\%$ motility and $\leq 20\%$ abnormalities. The treatments were T0 (control without honey), T1 (0,75%), T2 (1,50%), T3 (2,25%), T4 (3%) honey in Tris-egg yolk extender. Observed parameters included motility, viability, abnormality and recovery rate after thawing. Statistical analysis showed that honey supplementation significantly affected ($P < 0,05$) semen quality. The best result was obtained at 2,25% honey (T3), with post-thaw motility of 42,35%, viability of 59,80%, abnormality of 10,11%, and recovery rate of 52,64%. It can be concluded that 2,25% honey supplementation in Tris-egg yolk extender is the optimal concentration for maintaining the quality of frozen semen of landrace crossbred boars.

Keywords : Egg yolk; Honey; Tris extender; Landrace boar semen

PENDAHULUAN

Proses pembekuan semen babi tergolong rumit karena membran plasma spermatozoa sangat rentan terhadap cold shock dan peroksidasi lipid, yang dapat menurunkan kualitas sel selama kriopreservasi (Fraser dan Strzeżek, 2020; Yeste *et al.*, 2021; Giaretta *et al.*, 2022). Oleh karena itu, penyimpanan semen babi

umumnya dilakukan pada suhu 18–20°C guna menjaga stabilitas dan kualitas spermatozoa tetap optimal (Knox, 2020; Nalley *et al.*, 2023). Penggunaan pengencer yang tepat memainkan peran penting dalam mempertahankan motilitas, viabilitas, dan integritas membran plasma spermatozoa selama proses

pembekuan. Pengencer Tris-kuning telur (T-KT) umum digunakan dalam pembekuan semen karena Tris berfungsi sebagai buffer yang efektif dalam menjaga kestabilan pH, sedangkan kuning telur mengandung lipoprotein, fosfolipid dan *low density lipoprotein* (LDL) yang berperan dalam menjaga membran plasma spermatozoa dari kerusakan akibat stres oksidatif pada saat suhu ekstrem selama pembekuan (Kamal *et al.*, 2022; Moussa *et al.*, 2025).

Madu merupakan bahan alami yang berpotensi untuk ditambahkan kedalam pengencer karena mengandung berbagai jenis gula seperti 31,3% glukosa, 38,2% fruktosa, 7,1% maltosa, serta 1,3% sukrosa. Selain itu, madu juga menyediakan vitamin C, vitamin B kompleks, dan mineral penting, asam amino serta antioksidan yang berperan sebagai sumber energi, agen osmotik non-permeable serta pelindung membran spermatozoa selama kriopreservasi (Balogun *et al.*, 2022; Dylanesia, 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Balogun *et al.* (2022) melaporkan bahwa penambahan madu dalam pengencer *Androhep Plus* dan pengencer pembekuan yang berbasis laktosa-kuning telur mampu meningkatkan kualitas semen beku babi

hutan, khususnya motilitas dan integritas membran spermatozoa setelah thawing.

Pada ternak babi, penggunaan bahan sumber energi dan antioksidan dalam pengencer, seperti gula sederhana dan senyawa bioaktif, telah terbukti mampu mempertahankan integritas membran spermatozoa selama pembekuan. Namun, informasi mengenai penggunaan madu hutan sebagai tambahan dalam pengencer Tris-kuning telur pada semen beku babi peranakan *landrace*, khususnya terkait konsentrasi optimal yang efektif, masih sangat terbatas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penambahan madu dalam pengencer mampu meningkatkan kualitas semen cair maupun semen beku pada berbagai jenis ternak, namun kajian mengenai penggunaannya pada pembekuan semen babi masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki kebaruan dalam mengevaluasi level penambahan madu dalam pengencer Tris-kuning telur serta menentukan level optimalnya dalam mempertahankan kualitas semen beku babi peranakan *landrace*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh level madu dalam pengencer Tris-kuning telur terhadap kualitas semen beku babi peranakan *landrace*.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Happy Farm, di Tilong Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Nusa

Tenggara Timur. Semen dalam penelitian ini diperoleh dari empat ekor babi jantan peranakan *landrace* dewasa kelamin, sehat, dan produktif

berusia 2–2,5 tahun ditempatkan dalam kandang individu dilengkapi tempat pakan dan minum dirancang otomatis tersedia secara *ad libitum*, dengan menerapkan rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri dari lima perlakuan dan empat ulangan dan total 20 unit percobaan, dengan susunan rancangan: P0= T-KT + madu 0%; P1= T-KT + madu 0,75%; P2= T-KT + madu 1,50% ; P3= T-KT + madu 2,25% ; dan P4= T-KT + madu 3%. Setiap pengencer perlakuan ditambahkan 6% krioprotektan gliserol dan 20% kuning telur.

Pengencer perlakuan yaitu, madu hutan, larutan Tris sebanyak 80 mL dicampur dengan 20 mL kuning telur dihomogenkan menggunakan stirrer lengkap dengan spin bar ditambahkan antibiotik penisilin G (Penicillin-G Meiji®, Indonesia) 1000 IU/mL, streptomisin (Streptomycin Sulfate Meiji®, Indonesia) 0,5 mg/mL, serta gliserol (Merck®, Jerman) sebanyak 6%. Pengencer perlakuan kemudian dibagi ke dalam lima tabung perlakuan dan tambahkan madu sesuai perlakuan.

Proses penampungan semen dilakukan dengan teknik pemijatan menggunakan bantuan *dummy sow*, yang umum diterapkan pada babi pejantan (Yeste *et al.*, 2021). Pemeriksaan semen segar dilakukan secara makroskopis meliputi volume, warna, pH, dan konsistensi, serta secara mikroskopis untuk mengevaluasi motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi

spermatozoa (Giaretta *et al.*, 2022). Semen segar hasil evaluasi diencerkan dalam pengencer dasar T-KT dengan perbandingan 1:1 hingga tercampur secara homogen. Lalu, disimpan pada suhu 24-26°C selama 2 jam. Selanjutnya, semen disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan fraksi pellet dan supernatan. Kemudian, supernatan dibuang dan pellet diencerkan kembali menggunakan pengencer perlakuan, dan dilakukan evaluasi pasca pengenceran.

Setelah evaluasi pasca pengenceran, selanjutnya semen di packing dalam straw dan disusun ke dalam rak pembekuan, kemudian di ekuilibrasi pada suhu 3-8°C selama 2 jam. Pasca ekuilibrasi semen di evaluasi untuk menilai kualitasnya, lalu di lanjutkan pada tahap pembekuan. Setelah evaluasi rak yang berisikan straw di tempatkan dalam *colbox* pada jarak 10 cm diatas permukaan N₂ cair selama 10 menit. Kemudian, *straw-straw* tersebut dicelupkan dalam N₂ cair lalu, dimasukkan ke dalam canister atau goblet lalu di dimasukkan ke dalam tabung nitrogen cair dengan suhu $\pm -196^{\circ}\text{C}$. Evaluasi kualitas semen *pasca thawing* dilakukan secara mikroskopis. Motilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x pada 10 lapang pandang, dengan menilai persentase spermatozoa yang bergerak progresif (Yeste, 2021). Viabilitas spermatozoa ditentukan dengan menggunakan metode pewarnaan *eosin-nigrosin*, dimana

spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa yang sudah mati akan menyerap warna. Abnormalitas spermatozoa diamati dengan menghitung persentase spermatozoa yang memiliki bentuk abnormal (kepala, leher, atau ekor) dari total spermatozoa yang diamati. *Recovery rate* dihitung berdasarkan perbandingan motilitas semen pasca pembekuan dengan motilitas semen segar. Evaluasi pasca pembekuan

dilakukan ± 24 jam kemudian dengan straw semen beku direndam dalam air bersuhu 37°C selama 30 detik (Giaretta *et al.*, 2022; Nalley *et al.*, 2023).

Variable yang diteliti ialah motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan *recovery Rate* spermatozoa. Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan perangkat lunak IBM SPSS versi 22.0 dan *Microsoft Office Excel* 2023.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Parameter motilitas diukur berdasarkan kemampuan spermatozoa bergerak maju ke depan, sedangkan spermatozoa yang hanya bergerak di tempat, berputar, atau

tidak bergerak tidak dihitung sebagai motil karena tidak memiliki kemampuan untuk mencapai situs fertilisasi (Yeste *et al.*, 2021). Nilai motilitas spermatozoa babi peranakan *landrace* dalam pengencer uji dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata motilitas spermatozoa babi peranakan *landrace*.

Perlakuan	Tahap Evaluasi		
	Pasca Pengenceran %	Pasca Ekuilibrisasi%	Pasca Thawing %
P0	80,00 \pm 4,08 ^a	74,37 \pm 3,14 ^a	27,07 \pm 8,03 ^b
P1	80,00 \pm 4,08 ^a	73,12 \pm 3,75 ^a	33,16 \pm 6,13 ^{ab}
P2	80,00 \pm 4,08 ^a	73,12 \pm 3,75 ^a	33,99 \pm 6,51 ^{ab}
P3	80,00 \pm 4,08 ^a	74,37 \pm 3,14 ^a	42,35 \pm 12,31 ^a
P4	80,00 \pm 4,08 ^a	74,37 \pm 3,14 ^a	36,54 \pm 9,83 ^{ab}
P-Value	1,00	0,79	0,75

Keterangan: P0 (Tris-Kuning telur); P1 (Tris-Kuning telur + Madu 0,75%); P2 (Tris-Kuning telur + Madu 1,50%); P3 (Tris-Kuning telur T-KT + Madu 2,25%); P4 (Tris-Kuning telur + Madu 3%.

Berdasarkan hasil analisis statistik yang dilakukan, menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pasca pengenceran mencapai $80,00 \pm 4,08\%$ di semua perlakuan (P0-P4). Hal ini

memperlihatkan bahwa belum ada pengaruh perlakuan terhadap kualitas spermatozoa. Namun, setelah fase ekuilibrisasi sudah mulai terlihat sedikit penurunan nilai motilitas

menjadi $73,12 \pm 3,75\%$ pada P1 dan P2, meskipun terjadi penurunan, secara statistik angka tersebut tidak signifikan ($P > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa proses ekuilibriasi dimana penyimpanan straw pada suhu $3-8^{\circ}\text{C}$ menyebabkan spermatozoa mengalami kerusakan membran plasma sel akibat paparan suhu rendah yang ekstrem memicu reorganisasi lipid pada membran plasma, dan secara teknis mengurangi fleksibilitas ekor dan jumlah spermatozoa motil (Yeste *et al.*, 2021; Giaretta *et al.*, 2022). Setelah pembekuan dan pencairan kembali motilitas spermatozoa pada semua perlakuan (P0-P4) teramati menurun secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dua tahap sebelumnya. Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai motilitas pada P3 sebesar $42,35 \pm 12,31\%$, yang secara signifikan ($P < 0,05$) berbeda dengan P0. Temuan ini membuktikan bahwa pada kadar 2,25% madu, berhasil mencapai level optimal antara sifat osmotik dan kapasitas antioksidan.

Data yang diperoleh konsisten dengan laporan Balogun *et al.* (2022) yang menunjukkan bahwa suplementasi 0,50% madu dalam pengencer *Androhep Plus* secara nyata mampu mempertahankan motilitas spermatozoa babi hutan *pasca thawing* dibandingkan kontrol tanpa madu. Mekanisme biologis madu dalam melindungi spermatozoa

selama kriopreservasi bekerja melalui jalur sinergis antara proteksi osmotik dan aktivitas biokimia. Kandungan gula dalam madu berfungsi sebagai krioprotektan nonpermeabel yang meningkatkan viskositas medium ekstraseluler. Hal ini memicu dehidrasi seluler yang terkontrol, sehingga meminimalisir pembentukan Kristal es intraseluler yang dapat merusak struktur membrane plasma dan akrosom (Husna *et al.*, 2018). Selain itu, efektivitas madu didorong oleh kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang bekerja dalam menangkal radikal bebas. Senyawa ini secara aktif menghambat reaksi berantai peroksidasi lipid pada asam lemak tak jenuh ganda yang biasanya meningkatkan stres dingin (Olayemi *et al.*, 2020). Temuan ini juga didukung oleh beberapa penelitian pada spesies ternak lain. Chung *et al.* (2019) melaporkan bahwa penambahan 1% madu dalam pengencer Bioxcell pada pembekuan semen sapi secara signifikan menjaga motilitas spermatozoa *pasca thawing*. Nasreen *et al.* (2020) juga melaporkan bahwa konsentrasi 0,2% madu dalam formulasi pengencer Tris dan Sitrat- kuning telur menunjukkan efektivitas dalam mempertahankan motilitas *pasca thawing* pada semen kerbau dibandingkan dengan kontrol tanpa madu.

Tabel 2. Rata-rata viabilitas spermatozoa babi *landrace*.

Perlakuan	Tahap Evaluasi		
	Pasca Pengenceran %	Pasca Ekuilibrasi %	Pasca Thawing %
P0	87,83 ± 2,32 ^a	82,97 ± 2,42 ^a	41,52 ± 11,91 ^b
P1	88,64 ± 2,05 ^a	82,29 ± 3,42 ^a	47,32 ± 8,58 ^{ab}
P2	89,89 ± 3,69 ^a	84,77 ± 3,37 ^a	50,24 ± 8,68 ^{ab}
P3	90,56 ± 2,98 ^a	84,29 ± 3,56 ^a	59,80 ± 10,64 ^a
P4	89,65 ± 1,39 ^a	84,15 ± 1,17 ^a	51,46 ± 13,20 ^{ab}
P-Value	0,39	0,24	0,73

Keterangan: P0 (Tris-Kuning telur); P1 (Tris-Kuning telur + Madu 0,75%); P2 (Tris-Kuning telur + Madu 1,50%); P3 (Tris-Kuning telur + Madu 2,25%); P4 (Tris-Kuning telur + Madu 3%)

Hasil analisis menunjukkan nilai viabilitas spermatozoa pasca pengenceran berada pada titik optimal di semua perlakuan (P0-P4). Meskipun terjadi sedikit penurunan pada fase pasca ekuilibrasi menjadi 84,77±3,37% pada P2, menandakan bahwa stres osmotik dan suhu rendah tidak menyebabkan kerusakan berat pada membran plasma spermatozoa. Hal ini membuktikan efektivitas mekanisme krioproteksi selama ekuilibrasi dimana kombinasi madu 2,25% dengan gliserol 6% dalam pengencer Tris-kuning telur terbukti dapat menciptakan kondisi optimal untuk menjaga kestabilan membran plasma spermatozoa (Zhu *et al.*, 2021).

Pada fase *pasca thawing* terjadi penurunan nilai viabilitas yang signifikan ($P < 0,05$). Perlakuan P3 kembali menunjukkan nilai viabilitas tertinggi, yaitu 59,80±10,64%. Hasil ini telah memperlihatkan bahwa kombinasi madu 2,25% dan gliserol 6% memberikan perlindungan terbaik terhadap spermatozoa selama proses pembekuan dan pencairan kembali.

Mekanisme biologis efektivitas kombinasi ini didasari oleh sinergi perlindungan intraseluler dan ekstraseluler. Gliserol sebagai krioprotektan penetran mencegah pembentukan kristal es di dalam sel, sementara kandungan gula dalam madu bertindak sebagai agen non-penetran yang menstabilkan membran plasma melalui ikatan hidrogen dengan gugus fosfolipid. Interaksi ini menjaga fluiditas membran dan mencegah transisi fase yang kaku selama pembekuan (Sari *et al.*, 2023). Selain itu, komponen antioksidan fenolik dalam madu berperan krusial dalam memitigasi stres oksidatif pada mitokondria, sehingga integritas organel tersebut tetap terjaga untuk menjamin ketersediaan energi (ATP) bagi motilitas spermatozoa *pasca thawing* (Pradana dan Karja, 2021; Layek *et al.*, 2024).

Hasil penelitian ini selaras dengan laporan Balogun *et al.* (2022) 0,50% madu dalam pengencer *Androhep Plus* secara nyata mampu meningkatkan viabilitas spermatozoa

babi hutan *pasca thawing* dibandingkan kontrol tanpa madu. Temuan ini juga didukung oleh Banday *et al.* (2017) pada spesies domba, yang menemukan bahwa penambahan madu alami 2,5% dalam pengencer T-KT dapat meningkatkan viabilitas spermatozoa. Sementara itu Maidin *et al.* (2018) melaporkan bahwa kombinasi 2% madu dan minyak *Nigella sativa* dalam pengencer T-KT pada semen kambing mampu mempertahankan viabilitas *pasca thawing* lebih tinggi di banding kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa madu memiliki

peran konservatif lintas spesies, baik pada ruminansia maupun nonruminan.

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merujuk pada kelainan bentuk fisik dan struktural dari sel spermatozoa, yang dapat memengaruhi kemampuannya untuk menembus sel telur dan melakukan fertilisasi (Kumaresan *et al.*, 2020). Abnormalitas spermatozoa babi peranakan *landrace* ditampilkan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata nilai abnormalitas spermatozoa babi peranakan *landrace*

Perlakuan	Tahap Evaluasi		
	Pasca Pengenceran %	Pasca Ekuilibrasi %	Pasca <i>Thawing</i> %
P0	5,25 ± 0,87 ^a	6,26 ± 0,39 ^a	10,39 ± 1,10 ^a
P1	5,79 ± 1,40 ^a	6,92 ± 0,39 ^a	10,47 ± 3,14 ^a
P2	5,47 ± 0,66 ^a	6,93 ± 0,56 ^a	11,40 ± 2,88 ^a
P3	5,78 ± 1,08 ^a	6,91 ± 0,66 ^a	10,11 ± 3,90 ^a
P4	5,63 ± 0,90 ^a	6,85 ± 0,94 ^a	9,94 ± 2,11 ^a
P-Value	0,26	0,03	0,43

Keterangan: P0 (Tris-Kuning telur); P1 (Tris-Kuning telur + Madu 0,75%); P2 (Tris-Kuning telur + Madu 1,50%); P3 (Tris-Kuning telur + Madu 2,25%); P4 (Tris-Kuning telur + Madu 3%).

Hasil analisis memperlihatkan bahwa rata-rata nilai abnormalitas spermatozoa babi peranakan *landrace* pada semua tahap pengujian tidak signifikan ($P > 0,05$) antar perlakuan. Nilai abnormalitas relatif rendah pada tahap pasca pengenceran 5,25–5,79% dan pasca ekuilibrasi 6,26–6,93%, namun terjadi peningkatan setelah pembekuan dan pencairan kembali. Peningkatan abnormalitas *pasca thawing* terjadi akibat stres fisik dan

kimia yang dialami spermatozoa selama proses pembekuan, seperti pembentukan kristal es, perubahan tekanan osmotik, serta kerusakan membran plasma (Bucak *et al.*, 2020). Yeste (2021) menjelaskan bahwa tingginya proporsi asam lemak tak jenuh ganda dalam komposisi membran menyebabkan sel spermatozoa babi sangat rentan terhadap cekaman suhu ekstrem, sehingga memicu terjadinya

peroksidasi lipid yang pada akhirnya meningkatkan proporsi spermatozoa abnormal. Meskipun tidak signifikan ($P>0,05$), kecenderungan penurunan abnormalitas terlihat pada perlakuan dengan madu, khususnya P3 dan P4 yang menghasilkan nilai abnormalitas *pasca thawing* lebih rendah 10,11% dan 9,94% dibandingkan kontrol 10,39%. Hal ini menunjukkan adanya peran madu dalam menekan kerusakan morfologi spermatozoa akibat stres oksidatif. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan Balogun *et al.* (2022), madu mampu mengurangi pembentukan ROS sehingga mencegah kerusakan struktural pada kepala, ekor, maupun membran sel spermatozoa.

Hasil ini juga konsisten dengan temuan Gardela *et al.* (2023) pada semen kelinci yang menunjukkan bahwa penambahan madu dalam pengencer menurunkan proporsi spermatozoa abnormal setelah

thawing. Demikian pula, Yuksel *et al.* (2024) melaporkan bahwa madu pada konsentrasi 2% dalam semen domba efektif menurunkan kerusakan morfologi spermatozoa dibandingkan kontrol. Dengan demikian, meskipun perbedaan tidak signifikan ($P>0,05$) secara statistik, kecenderungan penurunan abnormalitas pada penelitian ini mendukung hipotesis bahwa madu berfungsi sebagai agen protektif terhadap kerusakan morfologi spermatozoa babi peranakan *landrace* selama kriopreservasi.

Recovery rate spermatozoa babi *landrace*

Recovery rate (RR) ialah perbandingan persentase spermatozoa motil pasca pembekuan dengan jumlah spermatozoa motil sebelum pembekuan (semén segar) (Yeste *et al.*, 2021). Data RR dari penelitian ini ditunjukkan dalam tabel 4.

Tabel. 4 Rata-rata nilai RR semen babi peranakan *landrace*

Perlakuan	Motilitas		
	Semen Segar %	Pasca <i>thawing</i>	<i>Recovery Rate</i>
P0	80,44 ± 4,17	27,07 ± 8,03	33,65 ± 1,92
P1	80,44 ± 4,17	33,16 ± 6,13	41,22 ± 1,47
P2	80,44 ± 4,17	33,99 ± 6,51	42,25 ± 1,56
P3	80,44 ± 4,17	42,35 ± 12,31	52,64 ± 2,95
P4	80,44 ± 4,17	36,54 ± 9,83	45,42 ± 2,35

Keterangan: P0 (Tris-Kuning telur); P1 (Tris-Kuning telur + Madu 0,75%); P2 (Tris-Kuning telur + Madu 1,50%); P3 (Tris-Kuning telur + Madu 2,25%); P4 (Tris-Kuning telur + Madu 3%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *recovery rate* tertinggi diperoleh pada perlakuan P3 dengan penambahan madu 2,25% yang mencapai 52,64±2,95%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok

kontrol yang hanya mencapai 33,65±1,92%. Tingginya presentase RR pada P3 menunjukkan bahwa kombinasi madu 2,25% dalam pengencer Tris-KT dengan gliserol 6% efektif dalam menjaga integritas

dan membran sel dan fungsi mitokondria spermatozoa selama pembekuan sehingga mampu meningkatkan daya tahan spermatozoa terhadap proses kriopreservasi dibandingkan kontrol tanpa madu (P0) (Arifiantini *et al.* 2022). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi madu dan gliserol bekerja sinergis, madu berfungsi sebagai sumber energi dan antioksidan yang mampu menekan peroksidasi lipid membran, sedangkan gliserol berperan sebagai krioprotektan penetratif yang mengurangi pembentukan kristal es

intraseluler (Zhu *et al.*, 2021).

Temuan ini selaras dengan Yüksel (2024) pada domba, yang menunjukkan madu pada level 2% menghasilkan RR lebih tinggi dibandingkan kontrol maupun dosis tinggi. Demikian pula, Gardela *et al.* (2023) melaporkan bahwa madu pada dosis moderat mampu meningkatkan persentase spermatozoa motil *pasca thawing* pada kelinci, yang berimplikasi pada perbaikan nilai RR. Konsistensi hasil lintas spesies ini memperkuat bukti bahwa madu berfungsi sebagai antioksidan alami yang efektif mempertahankan kualitas semen beku.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa suplementasi madu dengan konsentrasi 2,25% (P3) dalam pengencer Tris–kuning telur optimal

untuk mempertahankan kualitas semen beku babi peranakan *landrace* setelah pencairan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R. I., Yusuf, T. L., dan Graha, I. 2022. Effect of antioxidant supplementation in semen extender on mitochondrial function and post-thaw sperm quality. *Jurnal Veteriner*, 23(1), 45–52.
- Balogun, K. B., Nicholls, G., Sokunbi, O. A., dan Stewart, K. R. 2022. Cryoprotectant effects of natural honey on spermatozoa quality of pre-freezing and frozen-thawed boar semen. *Journal of animal science*, 101 (2):1-12.
- Banday, M. N, Lone, F. A., Rasool, F., Rather, H. A., dan Rather, M. A. 2017. Does natural honey act as an alternative to antibiotics in the semen extender for cryopreservation of crossbred ram semen?. *Iranian journal of veterinary research*, 18(4): 258-263.
- Bucak, M. N., Keskin, N., Ili, P., Bodu, M., Akal, E., Başpınar, N., dan Cayan, K. 2020s. Effects of cryopreservation on sperm quality: Mechanisms of cryodamage and strategies to improve post-thaw sperm function. *Theriogenology*, 150, 47–56.

- Chung, E. L. T., Nayan, N., Nasir, N. S. M., Hing, P. S. A., Ramli, S., Rahman, M. H. A., Kamalludin, M. H. 2019. Effect of honey as an additive for cryopreservation on bull semen quality from different cattle breeds under tropical condition. *Journal of Animal Health and Production*, 7(4):171-178.
- Dylanesia, W. 2023. Lebah Si Produsen Emas: Mengenal Lebih Jauh Tentang Madu Kehidupan Lebah. *Cahaya Harapan*. Yogyakarta.
- Fraser, L., dan Strzeżek, J. 2020. Effects of cooling and freezing on boar sperm membranes and their functional consequences. *Theriogenology*, 150, 366–374.
- Gardela, J., Conca, M. R., Palomares, Maneu, S. G., Calvo, G.D., Bejar, M. L., Pastor, F. M., Rodriguez, M. A. 2023. Effect of Honey, Coenzyme Q10, and β -Carotene/ α -Tocopherol as Novel Additives in Rabbit-Sperm Cryopreservation Extender. *Animals*, 13(14):23-29.
- Giaretta, E., Bucci, D., Mari, G., Tamanini, C., dan Galeati, G. 2022. Sperm cryopreservation in pigs: Current status and future perspectives. *Animals*, 12(3), 300.
- Husna, A., Wahyuni, S., dan Susilawati, T. 2018. Pengaruh penambahan madu dalam pengencer terhadap kualitas semen beku. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 28(2), 120–127.
- Kamal, M. M., Ghoneim, I. M., dan El-Badry, D. A. 2022. Effects of tris (hydroxymethyl) aminomethane and egg yolk on semen extenders. *Journal of Veterinary Medical Research*, 33(2): 235-243.
- Knox, R. V. 2020. Artificial insemination in pigs today: Current practices and future perspectives. *Theriogenology*, 150, 390–397.
- Kumaresan, A., Johannisson, A., Humblot, P., dan Morrell, J. M. 2020. Sperm morphology and its relationship to fertility: A review. *Theriogenology*, 150, 407–414.
- Layek, S. S., Mohanty, T. K., Kumaresan, A., dan Parks, J. E. 2024. Role of antioxidants in improving sperm function during cryopreservation. *Theriogenology*, 210, 45–53.
- Maidin, M. S., Padlan, M. H., Azuan, S. A. N., Jonit, R., Mohammed, N. H., Abdullah, R. 2018. Supplementation of Nigella sativa oil and honey prolong the survival rate of fresh and post-thawed goat sperms. *Journal Tropical Animal Science*, 41(2):94-99.
- Moussa, M., Abdel-Salaam, A., dan El-Harairy, M. A. 2025. Protective effect of low-density lipoprotein extracted from egg yolk on cryopreserved bull semen. *Animals*, 15(3): 411.
- Nalley, D. V., Wila, I. B. W., dan Budiasa, M. K. 2023. Perbandingan Kualitas Sperma Babi *Landrace* dalam Pengencer Beltsville Thawing Solution, Mulberry III, dan Sperm Life yang Disimpan pada Suhu 18°C. *Jurnal Veteriner*, 24(3): 347-356.
- Nasreen, S., Awan, M. A., UI-Husna, A., Rakha, B. A., Ansari, M. S., Holt, W., dan Akhter, S. 2020. Honey as an alternative to antibiotics for cryopreservation of Nili-Ravi buffalo bull spermatozoa. *Biopreservation and biobanking*, 18(1): 25-32.

- Olayemi, F. O., Adeniji, D. A., & Oyeyemi, M. O. 2020. Antioxidant properties of honey and its effects on sperm preservation. *Andrologia*, 52(5), e13545.
- Pradana, W., dan Karja, N. W. K. 2021. Peran antioksidan dalam mempertahankan kualitas spermatozoa selama kriopreservasi. *Jurnal Veteriner*, 22(2), 150–158.
- Priyanto, L., Susilawati, T., dan Wahyuningsih, S. 2020. Evaluasi viabilitas spermatozoa pasca pembekuan. *Jurnal Veteriner*, 21(3), 345–352.
- Sari, D. P., Raharjo, S., dan Widayati, D. T. 2023. Interaksi krioprotektan terhadap membran spermatozoa dan implikasinya pada kualitas pasca thawing. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 28(1), 25–33.
- Yeste, M. 2021. Sperm cryopreservation update: Mechanisms of cryodamage and biomarkers. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(S2), 3–13.
- Yüksel, H., Eser, A., Arıcı, R., Yağcıoğlu, S., dan Ak, K. 2024. Pengaruh penambahan madu bunga dan madu pinus pada pengencer terhadap karakteristik spermatologi pada semen domba jantan. *Jurnal Perhimpunan Dokter Hewan Yunani*, 74(4): 6351–6360.
- Zhu, X., Shi, W., Liu, X., Zhang, J. 2021. Efek perlindungan krioprotektan terhadap spermatozoa selama pembekuan: Sebuah tinjauan. *Kriobiologi*, 98: 66-67.