Hayati, Juni 1995, hlm. 34-41
ISSN 0854-8587
Vol. 2, No. 1

Osmoregulasi Kijing Air Tawar (*Velesunio ambiguus* Phillipi)

(*Osmoregulation of Freshwater Mussel Velesunio ambiguus Phillipi*)

TRI HERU WIDARTO[1*] DAN JOHN S. LUCAS[2]

[1]*Jurusan Biologi FMIPA IPB, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144*
[2] *Zoology Department, James Cook University of North Queensland, Australia 4811*

Diterima 15 Maret 1995/Disetujui 11 Mei 1995

The salinity tolerance and osmotic regulation of the freshwater mussel *Velesunio ambiguus* Phillipi has been studied in response to osmotic stress. This species of organism could tolerate salinity between 0 and 5 ppt (2 and 165 mOsm/kg) so that it could be considered as a stenohaline freshwater animal. The mussel regulated its haemolymph osmotic pressure over the salinity ranges 0-3 ppt (2-93 mOsm/kg) and it conformed to salinity among 3 and 5 ppt (93-165 mOsm/kg). For Na^+, it was found to be a regulator below ambient Na^+ of 23.51 mM and a conformer above this concentration. For K^+, this bivalve behaved as a regulator. Haemolymph osmotic pressure, the concentration of Na^+ and K^+ in the haemolymph, and the intracellular free amino acids (IFAA) of foot tissues increased as the ambient salinity (osmolality) increases from 0 ppt (2 mOsm/kg) to 5 ppt (165 mOsm/kg). The increase in extracellular fluid (haemolymph) pressure and ionic concentration, as well as the total IFAA is slower than the decrease of the same parameters when the mussels were exposed to salinity stress. It appeared that the mussel *Velesunio ambiguus* employed its shells to buffer against abrupt hyperosmotic stress.

PENDAHULUAN

Dua masalah utama dihadapi oleh organisme air tawar akibat cairan tubuh mereka yang hiperosmosis terhadap lingkungannya (Hill 1976). Gradien osmosis antara cairan tubuh dan lingkungannya menyebabkan (i) masuknya air dengan osmosis secara terus-menerus ke dalam tubuh dan (ii) hilangnya garam-garam tubuh dan zat terlarut lainnya melalui urin hipotonisnya. Kalau hal itu dibiarkan, sel mungkin akan membengkak dan melisis. Untuk mencegah pembengkakan dan lisis tersebut, organisme air tawar harus mempertahankan keseimbangan osmosis dan ion antara lingkungan luar tubuh, ruang ekstraseluler dan intraseluler. Kijing air tawar *Velesunio ambiguus* Phillipi (Mollusca: Hyriidae) dibandingkan dengan hewan akuatik lainnya, memiliki tekanan osmosis cairan tubuh yang jauh lebih rendah. Walaupun demikian, mereka masih menjaga tekanan osmosis ekstraselulernya lebih tinggi dari lingkungannya (Deaton, 1981).

Pada lingkungan alaminya, kijing air tawar tidak pernah mengalami cekaman yang disebabkan oleh perubahan salinitas lingkungannya. Walaupun demikian, beberapa kajian di laboratorium menunjukkan bahwa cairan ekstraseluler (darah atau hemolimfa), dan juga cairan intraseluler (sitoplasma) kijing berubah dengan berubahnya media hidupnya. Mereka tampaknya melakukan pengaturan atau konformasi kondisi internal mereka yang meliputi kondisi osmosis, ion dan volume sel bergantung pada salinitas media. Usaha untuk menjaga homeostasis tersebut perlu agar fungsi fisiologi sel-sel tubuh dapat berlangsung secara maksimal.

Ada beberapa bukti yang menunjukkan bahwa pada hemolimfa, ion memainkan peranan penting, sedangkan di dalam sel, asam amino bebas intraseluler (AABI) agaknya lebih penting daripada ion dalam menjaga homeostasis intraseluler (Matshusima *et al.*, 1989). Pada umumnya, tekanan osmosis hemolimfa yang mencerminkan konsentrasi ion-ionnya bertambah dengan meningkatnya salinitas eksternal tubuh. Peningkatan ini akan diikuti oleh kenaikan AABI di dalam sitoplasma. Sumbangan asam amino ini bervariasi dari spesies ke spesies walaupun respons dari total AABI terhadap salinitas lingkungan biasanya sama (Virkar dan Webb, 1970; Pierce, 1982).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari toleransi kijing air tawar terhadap salinitas dan pengaturan osmosisnya pada media dengan salinitas yang berubah-ubah.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Kijing percobaan ini berasal dari Ross River, Townsville Australia. Kijing dipelihara di dalam sebuah akuarium besar berisi air tawar dengan salinitas 0.07 ppt (permil).

Uji Toleransi Kijing terhadap Salinitas. Tujuh puluh ekor kijing yang berukuran panjang sekitar 90 mm dipelihara di dalam tujuh akuarium yang masing-masing mengandung air dengan salinitas 0.07, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00, 25.00 ppt. Salinitas 2.5-20.0 ppt diperoleh dengan mencampur air tawar dan air laut. Salinitas diukur dengan salinometer LC80. Akuarium dibersihkan dua kali seminggu. Bila ada individu yang mati air segera diganti. Aerasi dilakukan selama masa aklimatisasi dan berlangsungnya percobaan.

* Penulis untuk korespondensi

Pengaturan Osmosis pada Beberapa Salinitas. Lima ekor kijing dipelihara di dalam akuarium yang mengandung berbagai salinitas air (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 ppt). Kijing yang toleran terhadap salinitas diaklimatisasi selama sepuluh hari pada setiap salinitas uji. Baji plastik digunakan untuk menjaga agar cangkang tetap terbuka.

Air mantel diperoleh dengan cara mengosongkan ruang mantel. Setelah ruang mantelnya kosong, otot aduktor anterior dipotong dengan skalpel untuk memperoleh hemolimfenya. Selanjutnya otot kaki diiris dengan gunting bedah. Air mantel, hemolimfa dan otot kaki disimpan di dalam alat pembeku untuk analisis.

Tekanan osmosis air mantel dan hemolimfa diukur dengan osmometer krioskopis yang bekerja berdasarkan titik beku (Osmomat 030).

Konsentrasi Na^+ dan K^+ diukur dengan menggunakan fotometer bakar (Corning 400 dan 410). Setetes contoh hemolimfa dipindahkan ke dalam wadah berukuran 15 ml dan dilarutkan sampai pada kisaran fotometer yang sudah dikalibrasi. Setiap contoh diukur duplo. Air bebas ion digunakan sebagai blanko dan pengencernya. Fotometer dikalibrasi dengan larutan baku 0.5 mMol Na^+ yang dibuat menjadi 0.1-0.5 mMol dan dengan larutan baku 0.25 mMol K^+ yang dibuat menjadi 0.05-0.25 mMol.

Asam amino bebas intraseluler total diukur berdasarkan reaksi asam amino dengan ninhidrin, sehingga yang diukur ialah jumlah dari senyawa positif ninhidrin (Lucas, 1991). Pengukurannya dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Hitachi Model 101).

Pengaturan Osmosis pada Salinitas Lingkungan yang Berubah-ubah. Dari tujuh puluh kijing yang dipelihara di dalam air tawar, cangkang dari 35 individu diganjal dengan baji plastik dan sisanya dibiarkan terkatup. Tujuh puluh individu lagi dengan cangkang terbuka dan terkatup dipelihara di dalam akuarium yang berisi air dengan salinitas 5 ppt. Tiga puluh lima lagi dipelihara di dalam air tawar sebagai kontrol. Setelah sembilan hari aklimatisasi, air dari masing-masing akuarium diganti. Kijing yang semula diaklimatisasi di dalam air tawar dipindahkan ke akuarium air asin dan sebaliknya kijing yang diaklimatisasi di dalam air asin dipindahkan ke air tawar. Kijing kontrol tetap dipelihara di dalam air tawar.

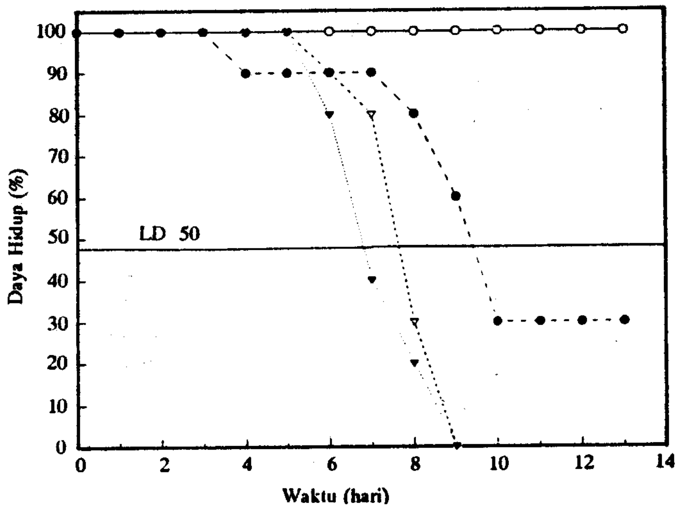
Pada interval waktu tertentu, lima individu diambil. Air dari ruang mantel dan hemolimfanya dikeluarkan dan disimpan dalam botol-botol kecil. Otot kakinya diiris sedikit dan irisannya dibungkus dengan kertas alumunium. Contoh tersebut disimpan di dalam lemari pembeku untuk analisis.

Pengukuran tekanan osmosis air mantel dan hemolimfa, penentuan konsentrasi Na^+ dan K^+ hemolimfa serta analisis AABI dilakukan seperti telah dijelaskan sebelumnya.

Untuk melihat pengaturan air, lima individu diambil dari setiap akuarium. Mereka ditimbang dengan ketelitian 0.001 g setelah ruang mantelnya dikosongkan dan cangkangnya dikeringkan dengan kertas serap. Prosedur ini dilakukan sebelum kijing dipindahkan dan diulang pada waktu tertentu setelah pemindahan. Setelah penimbangan, mereka dikembalikan ke masing-masing akuarium asal.

HASIL

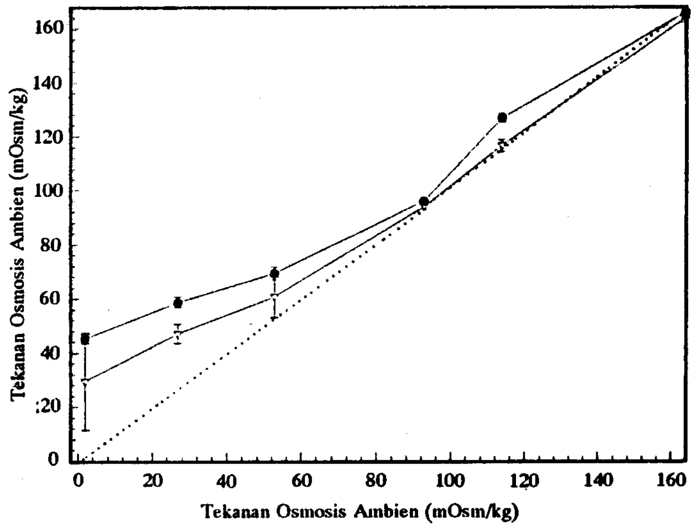
Toleransi Kijing terhadap Salinitas. Kijing air tawar *V. ambiguus* toleran terhadap salinitas dari 0-5 ppt (Gambar 1). Mereka dapat bertahan hidup paling tidak selama 14 hari. Perilaku mereka juga kelihatan normal. Mereka membuka



Gambar 1. Daya Tahan *Velesunio ambiguus* pada Berbagai Salinitas Media. Simbol: o 0-5 ppt, • 10 ppt, ▿ 20 ppt, ▾ 25 ppt

cangkangnya dan menjulurkan kakinya untuk merayap di dasar akuarium. Mereka banyak yang mati di dalam perlakuan dengan salinitas di atas 5 ppt. Pada salinitas 10 ppt, hanya 30% dengan kijing yang hidup sampai akhir percobaan dan pada salinitas 20 dan 25 ppt semua kijing mati setelah sembilan hari ada di dalam akuarium.

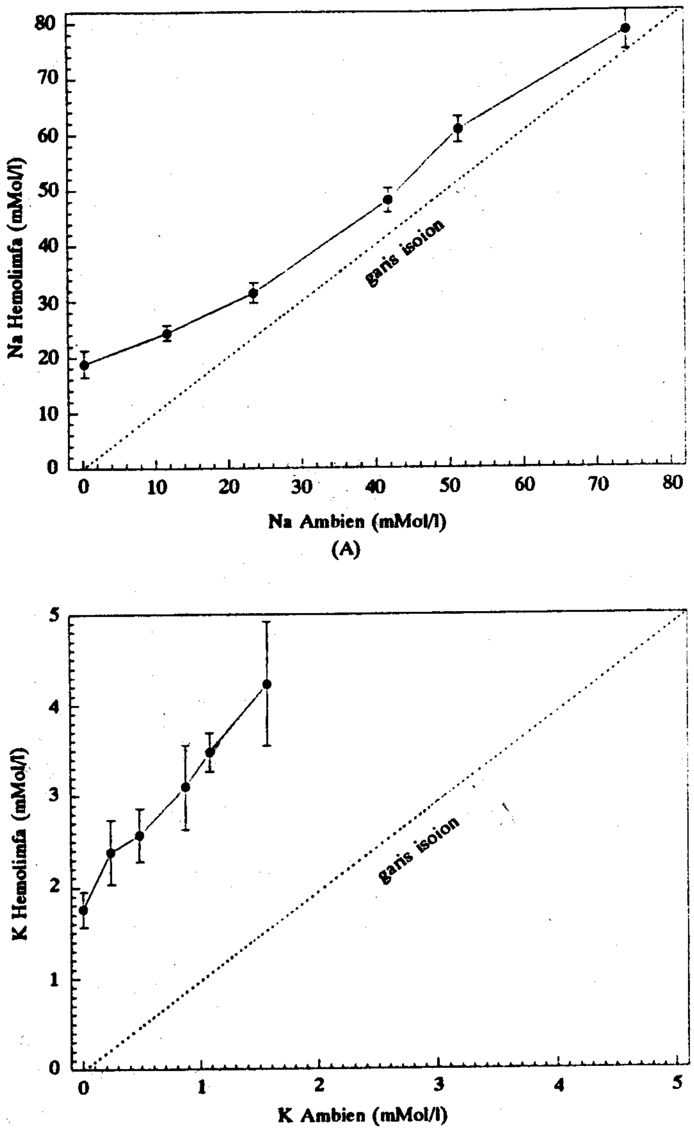
Pengaturan Osmosis Kijing pada Berbagai Salinitas. Percobaan ini juga menunjukkan bahwa *V. ambiguus* merupakan penyesuai osmosis (*osmoconformer*) pada salinitas antara 3 ppt (93 mOsm/kg) dan 5 ppt (165 mOsm/kg). Perubahan salinitas lingkungan diikuti oleh perubahan tekanan osmosis hemolimfe secara linear dan paralel dengan garis isoosmosis (Gambar 2). Uji statistik menunjukkan bahwa nilai kemiringan garisnya (b) tidak berbeda nyata dengan satu. Di bawah 3 ppt, hewan ini merupakan pengatur osmosis (osmoregulator). Kemiringan garisnya berbeda nyata dengan garis isoosmosis. Dengan menurunnya salinitas lingkungan, perbedaan osmosis antara hemolimfa dan media membesar.



Gambar 2. Tekanan Osmosis Hemolimfa dan Air Mantel setelah Aklimatisasi selama Sepuluh hari di dalam Salinitas Uji dibandingkan dengan Garis Isoosmosis. Simbol: • hemolimfa, ▿ air matel, ... garis isoosmosis

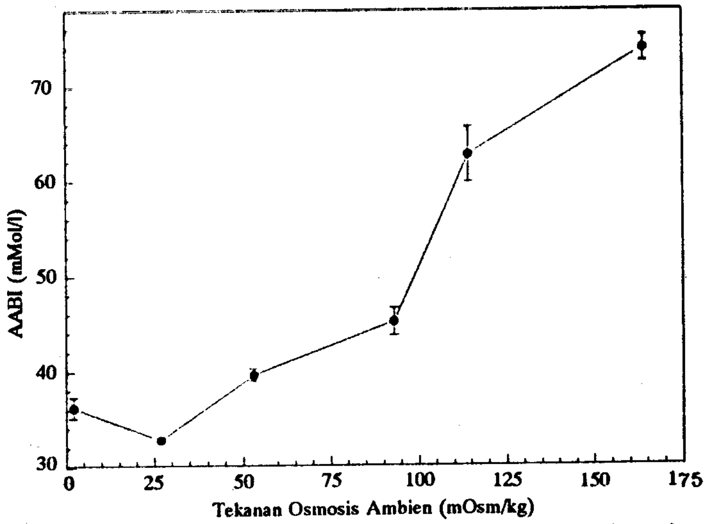
Tanggapan ion terhadap perubahan salinitas lingkungan ditunjukkan pada Gambar 3. Dengan naiknya salinitas, konsentrasi Na^+ dan K^+ hemolimfe juga meningkat dengan konsentrasi Na^+ selalu lebih besar dari konsentrasi K^+. Pada konsentrasi media di atas 23.5 mMol/l (2 ppt), perubahan konsentrasi Na^+ linear dan paralel dengan garis isoion, tetapi pada konsentrasi di bawah 23.5 mMol/l perubahan konsentrasi Na^+ tidak lagi sejajar dengan garis isoion. Untuk K^+, hewan ini menjaga konsentrasi K^+ hemolimfa lebih tinggi daripada konsentrasi K^+ di dalam media pada berbagai konsentrasi.

Gambar 4 memperlihatkan perubahan AABI total dari jaringan kakinya akibat peningkatan salinitas lingkungannya. Peningkatan salinitas dari 0 ke 5 ppt menyebabkan suatu peningkatan konsentrasi AABI total dari 36.26 /l menjadi 73.95 mMol/l. Peningkatan ini didahului oleh peningkatan tekanan osmosis hemolimfa dari 45 menjadi 166 mOsm/kg (Gambar 2).



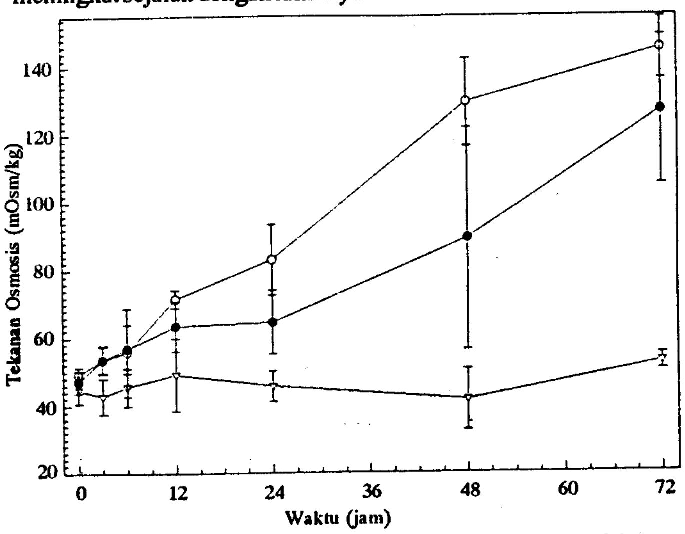
(B)

Gambar 3. Konsentrasi Na^+ dan K^+ Hemolimfa sebagai Fungsi dari Konsentrasi Ion-ion tersebut di dalam Media setelah Sepuluh Hari Aklimatisasi di di dalam Berbagai Salinitas

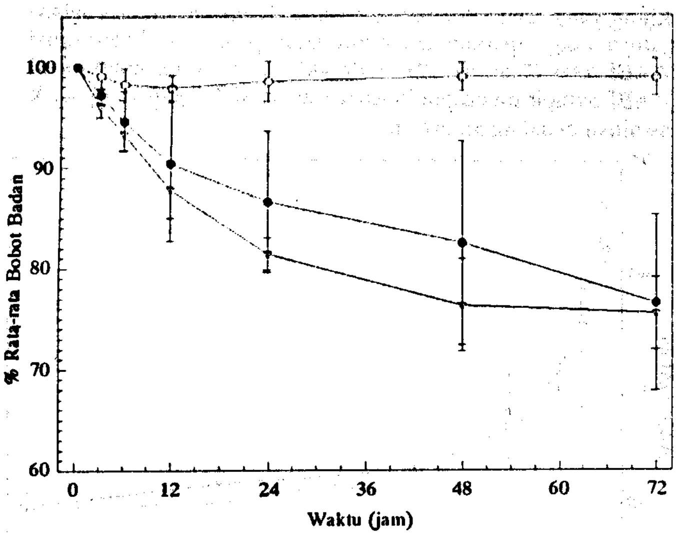


Gambar 4. Konsentrasi Asam Amino Bebas Intraseluler (AABI) Total Jaringan Kaki setelah Sepuluh Hari Aklimatisasi di dalam Berbagai Salinitas

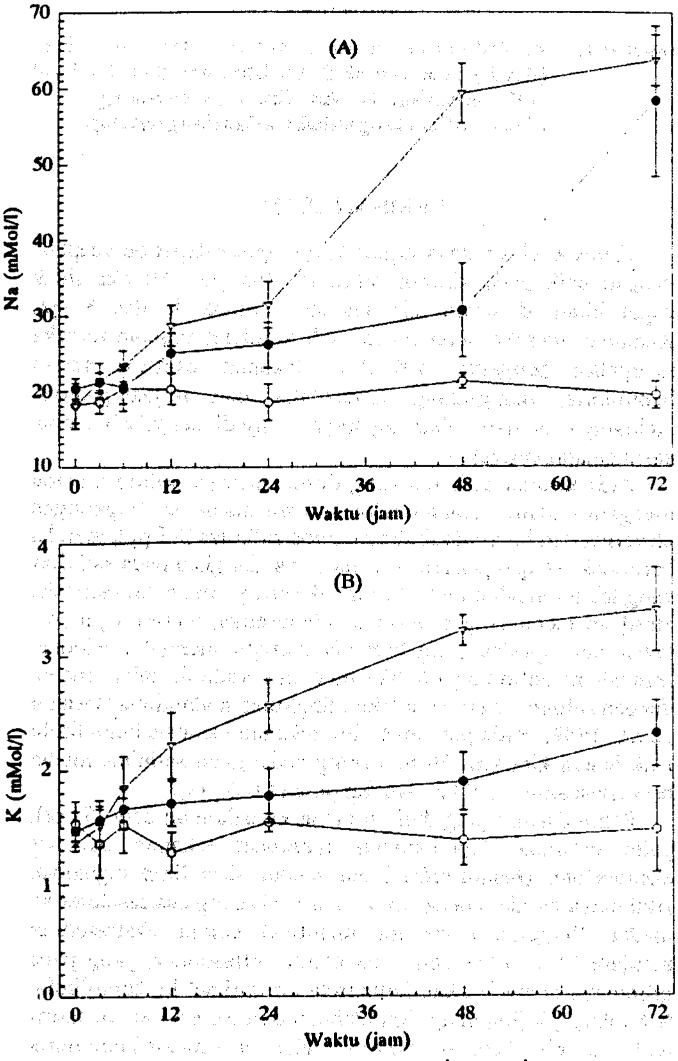
Pengaturan Osmosis Kijing pada Salinitas yang Berubah-ubah: (i) Respons Kijing terhadap Cekaman Hiperosmosis. Tekanan osmosis hemolimfa kijing meningkat secara perlahan-lahan dengan semakin lamanya kijing mengalami cekaman (Gambar 5). Setelah tiga hari, tidak ada tanda-tanda bahwa tekanan osmosis mencapai maksimum. Tekanan osmosis hemolimfa kijing yang terbuka cangkangnya cenderung lebih tinggi daripada yang cangkangnya terkatup. Akibat cekaman ini kijing mengalami dehidrasi (Gambar 6). Kehilangan air tubuh ditandai dengan penurunan bobot tubuhnya. Kehilangan air pada kijing yang cangkangnya terbuka cenderung lebih banyak dibandingkan dengan kijing yang cangkangnya terkatup. Perubahan ion di dalam hemolimfa memperlihatkan pola yang sama dengan pola perubahan tekanan osmosisnya (Gambar 7). Tampak bahwa konsentrasi Na^+ dan K^+ meningkat dengan semakin lamanya kijing mengalami cekaman. Respons ekstraseluler di atas diikuti oleh respons intraseluler yang dikenali dari perubahan konsentrasi AABI (Gambar 8). Konsentrasi AABI meningkat sejalan dengan lamanya cekaman.



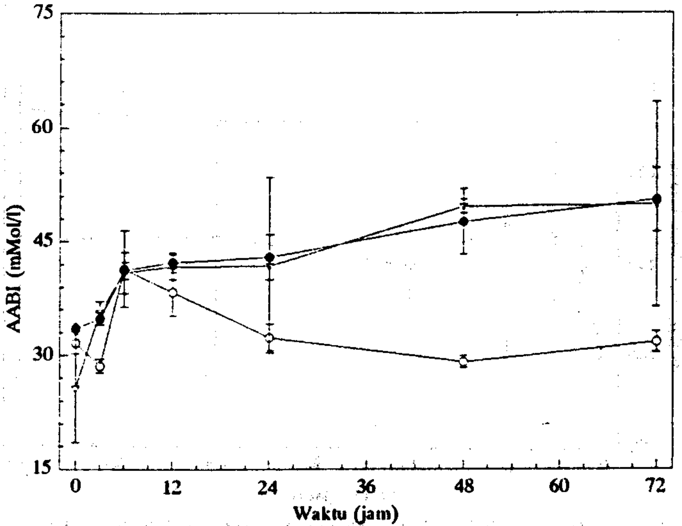
Gambar 5. Perubahan Tekanan Osmosis Hemolimfa setelah Dipindahkan dari Air dengan Salinitas (4mOsm/kg) ke 5 ppt (14 mOsm/kg). Simbol: ▾ Kontrol, ○ Cangkang terbuka, ● Cangkang terkatup



Gambar 6. Perubahan Bobot Badan Rata-rata setelah Pemindahan dari Air Tawar (4 mOsm/kg). Simbol: ○ Kontrol, ▽ Cangkang terbuka, ● Cangkang terkatup

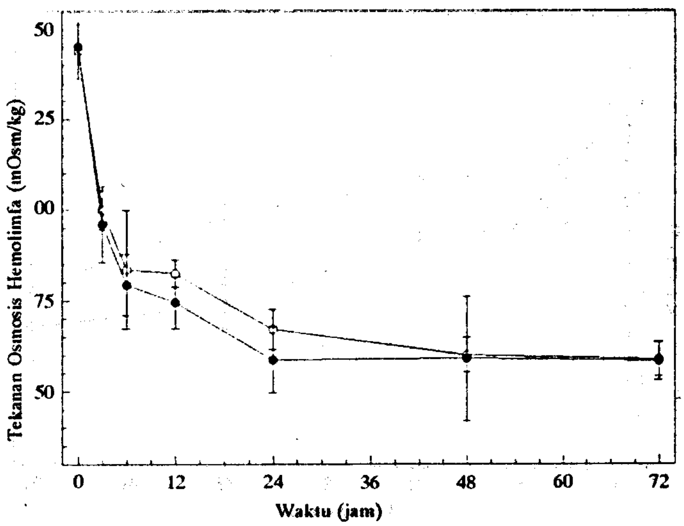


Gambar 7. Perubahan Konsentrasi Ion Na^+ dan K^+ setelah Pemindahan dari Air Tawar (4 mOsm/kg). Simbol: ○ Kontrol, ▽ Cangkang terbuka, ● Cangkang terkatup



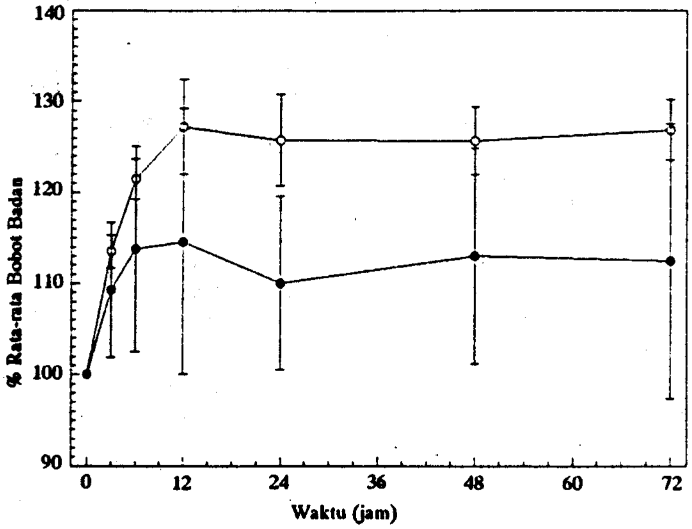
Gambar 8. Perubahan Konsentrasi Asam Amino Bebas Intraseluler (AABI) Total setelah Pemindahan dari Air Tawar (4 mOsm/kg). Simbol: ○ Kontrol, ▽ Cangkang terbuka, ● Cangkang terkatup

(ii) Respons Kijing Setelah Aklimatisasi dalam Air Asin (5 ppt) dan Dikembalikan ke Air Tawar. Pengembalian kijing ke air tawar setelah dipelihara selama sembilan hari di dalam air asin (5 ppt) telah mengakibatkan perubahan kondisi osmosis di dalam tubuhnya. Tekanan osmosis hemolimfanya menurun sangat drastis pada enam jam pertama, kemudian stabil pada sekitar 60 mOsm/kg setelah 48 jam (Gambar 9). Dalam hal ini, perbedaan antara kijing dengan cangkang terbuka dan kijing dengan cangkang terkatup tidak nyata. Perubahan bobot badan juga terjadi akibat penurunan salinitas lingkungan. Terjadinya penyerapan air yang membuat peningkatan bobot badan kijing merupakan akibat adanya perbedaan tekanan osmosis internal antara tubuh dan lingkungannya (Gambar 10). Pada hemolimfa, penurunan juga terjadi pada konsentrasi Na^+ dan K^+ seperti pada Gambar 11. Setelah tiga hari, yaitu pada akhir percobaan, konsentrasi Na^+ hampir sama dengan konsentrasi Na^+ dari

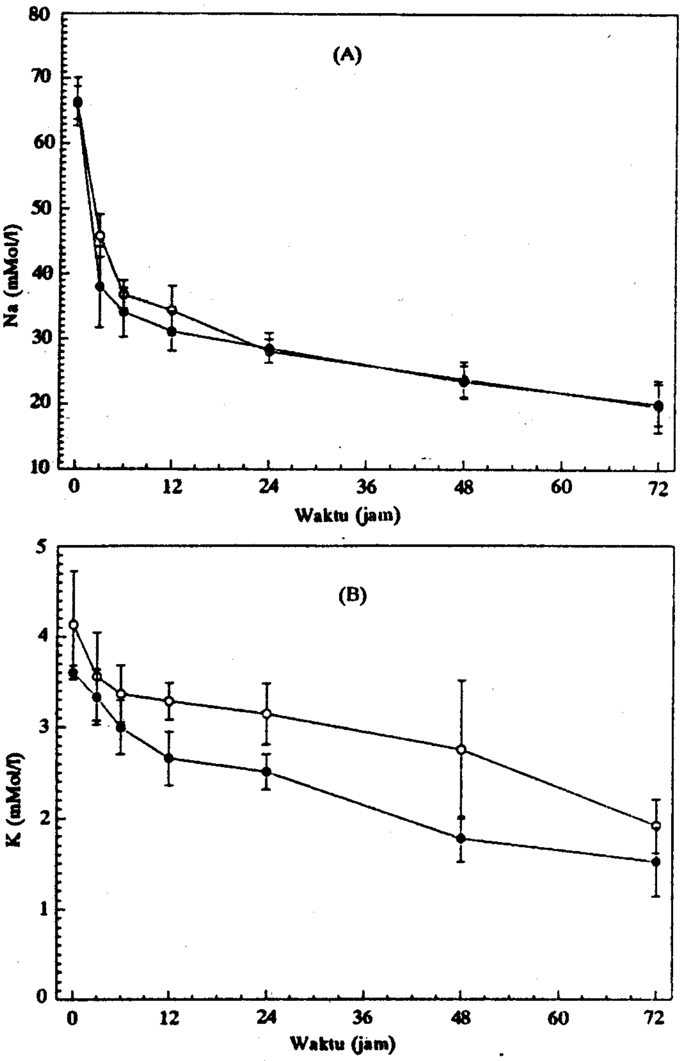


Gambar 9. Perubahan Tekanan Osmosis Hemolimfa setelah Pemindahan dari Salinitas 5 ppt (147 mOsm/kg) ke air tawar (4 mOsm/kg). Simbol: ○ Cangkang terbuka, ● Cangkang terkatup

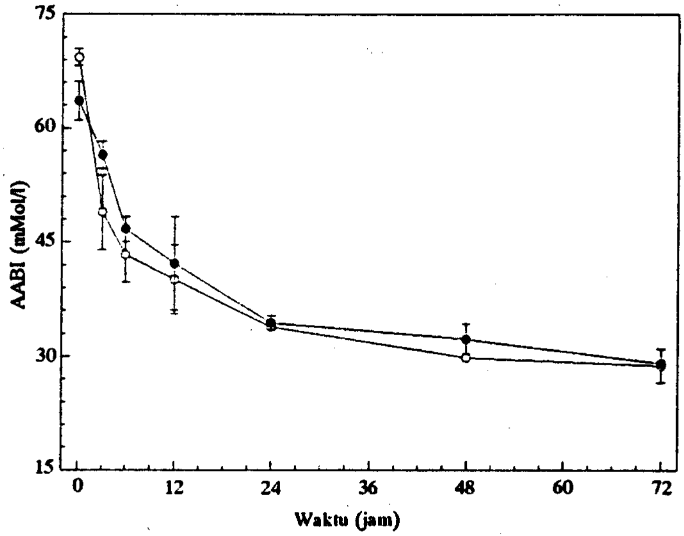
kijing yang selalu di dalam air tawar. Respons osmosis selanjutnya yang diperlihatkan kijing ialah penurunan konsentrasi AABI total (Gambar 12). Pada akhir percobaan, konsentrasi AABI hampir mencapai konsenstrasi AABI kijing yang sejak awalnya di dalam air tawar.



Gambar 10. Perubahan Bobot Badan Rata-rata setelah Pemindahan dari Salinitas 5 ppt (147 mOsm/kg) ke Air Tawar (4 mOsm/kg). Simbol: o Cangkang terbuka, • Cangkang terkatup



Gambar 11. Perubahan Konsentrasi Ion Na^+ dan K^+ setelah Pemindahan dari Salinitas 5 ppt (147 mOsm/kg) ke Air Tawar (4 mOsm/kg). Simbol: o Cangkang terbuka, • Cangkang terkatup



Gambar 12. Perubahan Konsentrasi Asam Amino Bebas Intraseluler (AABI) Total setelah Pemindahan dari Salinitas 5 ppt (147 mOsm/kg) ke Air Tawar (4 mOsm/kg). Simbol: o Cangkang terbuka, • Cangkang terkatup

PEMBAHASAN

Tampak jelas bahwa kijing *V. ambiguus* dapat beradaptasi dengan baik pada kisaran salinitas 0-5 ppt. Mereka tidak dapat hidup di dalam air dengan salinitas di atas 5 ppt. Kematian mereka diakibatkan oleh ketidakmampuan mereka mengatasi pengaruh perbedaan tekanan osmosis antara hemolimfa, ruang-ruang intraseluler dan lingkungannya. Keluarnya air dari tubuh agaknya menjadi penyebab utama atas kematian mereka.

Pada kisaran salinitas yang ditoleransinya, kijing mampu mengatasi adanya gradien tekanan osmosis antara lingkungan eksternal dan internal tubuhnya. Pada salinitas 3-5 ppt, mereka bertindak sebagai penyesuai osmosis; sedangkan pada salinitas yang lebih rendah mereka bertindak sebagai pengatur osmosis. Hasil ini menunjang penelitian sebelumnya, bahwa kijing air tawar dari spesies yang berbeda mampu mengatur tekanan osmosis hemolimfanya ketika mereka berada di dalam media dengan salinitas yang mendekati lingkungan alaminya (Deaton *et. al.,* 1989). Pada percobaan ini, tekanan osmosis hemolimfa naik hanya kira-kira 50 mOsm/kg sedangkan salinitas media bervariasi antara 2-93 mOsm/kg (antara 0-3 ppt).

Pemindahan kijing dari air tawar ke dalam air asin (5 ppt), yaitu cekaman hiperosmosis membuat tekanan osmosis ekstraseluler (hemolimfa) lebih rendah dari lingkungannya. Akibatnya air akan bergerak keluar dari ruang ekstraseluler ke media. Pergerakan air ini membuat cairan ekstraseluler menjadi lebih pekat dari pada cairan intraseluler, yang pada gilirannya menyebabkan keluarnya air dari sel ke hemolimfa. Sebaliknya, kijing yang dipindahkan dari air asin ke air tawar (cekaman hipoosmosis) memiliki tekanan osmosis hemolimfa dan cairan intraseluler yang lebih besar dari medianya. Keadaan ini mengakibatkan air masuk secara osmosis ke dalam tubuh kijing. Pergerakan air dari dan ke dalam tubuh kijing tercermin dari perubahan bobot badan kijing sebelum dan sesudah mengalami cekaman.

Hasil lainnya menunjukkan bahwa kapasitas kijing dalam pengaturan air tidaklah terlalu berarti. Hingga akhir percobaan tidak ada kijing yang mampu mencapai bobot awal tubuhnya, artinya pada spesies ini untuk pemulihan atas kehilangan air dibutuhkan waktu lebih dari 72 jam. Waktu pemulihan atas kehilangan air pada kijing bervariasi antara spesies (Pierce, 1982). Umumnya, hewan eurihalin (yang hidup pada kisaran salinitas lingkungan yang luas) mempunyai waktu pemulihan yang lebih cepat daripada spesies yang stenohalin (yang hidup pada kisaran salinitas lingkungan yang sempit). Gainey dan Greenberg (1977) berpendapat bahwa kapasitas untuk pengaturan volume hiperosmosis pada kijing air tawar terbatas. *Corbicula manilensis*, hanya memperoleh 94% dari bobot tubuh awal setelah dipelihara di dalam air asin 5 permil dan untuk memulihkan bobotnya diperlukan waktu 120 jam. Hiscock (1953) juga menemukan bahwa *Hyridella australis* tidak dapat memperoleh kembali bobot tubuhnya setelah mengalami cekaman hiperosmosis.

Hasil analisis ion-ion Na^+ dan K^+ menguatkan pendapat bahwa Na^+ menyumbangkan tekanan osmosis hemolimfa lebih besar daripada K^+ (Gambar 3). Namun, tidak berarti bahwa Na^+ lebih penting daripada K^+ dalam sumbangannya terhadap keosmolaran hemolimfa, karena keduanya penting bagi pengaturan ion (Rorive dan Gilles 1979). Pada *C. manilensis*, ion Cl^-, Ca^{2+} dan HCO_3^- merupakan bagian dari sistem ion dari hemolimfa, dengan Na^+ dan Cl^- dalam konsentrasi yang paling tinggi (Deaton, 1981). Selain itu adanya Mg^{2+} pada *Lampsilis fortunei* juga mendapatkan bahwa Na^+ dan Cl^- merupakan ion-ion utama di dalam hemolimfa (Deaton *et al.*, 1989).

Dalam hal ion Na^+, *V. ambiguus* adalah penyesuai pada konsentrasi media di atas 23.51 mMol/l (2 ppt = 53 mOsm/kg) dan pengatur (regulator) pada media di bawah konsentrasi tersebut. Spesies ini nampaknya juga pengatur K^+ pada salinitas media yang ditoleransinya. Menurut Deaton (1981) *L. claibornensis* dan *C. manilensis* adalah penyesuai ion pada salinitas media di atas 100 mOsm/l dan sebagai pengatur pada salinitas dibawahnya. Sedangkan pada *L. fortunei* konsentrasi media di atas 70 mOsm/l merupakan penyesuai ion (Deaton *et al.*, 1989).

Pola perubahan konsentrasi Na^+ dan K^+ di dalam hemolimfa terlihat jelas sama dengan pola perubahan tekanan osmosisnya. Kesamaan ini bukanlah suatu hal yang tidak biasa, karena ion-ion tersebut merupakan komponen utama penyumbang tekanan osmosis di dalam hemolimfa (Pierce, 1982). Salah satu sumber ion ialah lingkungan hewan itu sendiri. Gainey dan Greenberg (1977) berpendapat bahwa kijing air tawar mampu mentransportasikan Na^+ dan Cl^- secara aktif dari lingkungannya ke dalam tubuhnya sebagai salah satu mekanisme pengaturan ion. Asam-asam amino mungkin dapat diabaikan dalam sumbangannya terhadap tekanan osmosis hemolimfa karena kadar asam-asam amino hanya 1% dari total larutan yang terdapat di dalam hemolimfa (Hanson dan Dietz, 1976).

Dalam keadaan normal, ketika tekanan osmosis di ruang ekstraseluler meningkat akan terjadi peningkatan di dalam ruang intraseluler pula. Saat ini sudah diyakini bahwa hewan menggunakan asam-asam amino bebas intraseluler (AABI) untuk mempertahankan kondisi osmosis antara sel-sel tubuh, cairan ekstraseluler yang mengelilinginya dan hemolimfa ketika mereka menghadapi kondisi cekaman dari lingkungannya. Tampak bahwa total AABI cenderung meningkat dengan meningkatnya salinitas lingkungan (Gambar 4). Suatu peningkatan tekanan osmosis hemolimfa dari 45 mOsm/kg (di dalam 0 ppt) ke 166 mOsm/kg (di dalam 5 ppt) diikuti oleh suatu peningkatan konsentrasi total AABI dari 36.26 mMol/kg ke 73.95 mMol/kg. Ini menunjukkan bahwa asam-asam amino bebas tersebut sangat penting di dalam pengaturan osmosis intraseluler. Menurut Gilles (1979) AABI digunakan oleh kijing sebagai osmolit untuk mengimbangi gradien osmosis antara ruang-ruang ekstra dan intraseluler. Selain itu AABI juga dibutuhkan untuk mencegah gangguan pada metabolisme sel jika ada perubahan pada kation-kation intraseluler yang umum seperti K^+ dan Na^+ (Schmidt-Nielsen, 1990).

Pada kebanyakan invertebrata termasuk moluska, modifikasi dari ukuran sumber-sumber AABI (unggun AABI) merupakan mekanisme utama pada pengaturan volume intraseluler (Deaton *et al.*, 1989). Percobaan ini menunjukkan hasil yang sama dengan kajian-kajian sebelumnya dalam hubungannya dengan unggun AABI dan pengaturan volume pada *V. ambiguus*.

Perubahan-perubahan pada unggun AABI sesuai dengan perubahan-perubahan pada salinitas lingkungan. Perubahan tersebut terjadi pada waktu yang cukup singkat setelah salinitas media dinaikkan atau diturunkan. Gambar 9 dan 12 menunjukkan bahwa unggun AABI berubah secara nyata dalam tiga jam setelah kijing dipindahkan, khususnya pada kijing dengan cangkang terbuka. Perubahan ini terjadi sebagai respons terhadap perubahan yang cepat pada hemolimfanya. Menurut Virkar dan Webb (1970), hal ini menunjukkan bahwa perubahan-perubahan pada unggun AABI adalah efektif dalam penyesuaian osmosis di dalam sel.

Kijing memperlihatkan suatu kenaikan AABI yang lambat sebagai respons terhadap cekaman hiperosmosis. Setelah 72 jam, konsentrasi AABI hanya mencapai 50 mmol/l, sekitar 13-20 mmol lebih rendah daripada konsentrasi AABI kijing yang sejak mula dipelihara pada 5 ppt. Respons yang sama juga telah diamati oleh Florkin (1938) *dalam* Gainey dan Greenberg (1977) pada *Anodonta cygnea*, dan oleh Hiscock (1953a) pada *H. australis*.

Sumber asam amino bebas ketika unggun AABI meningkat sebagai respons terhadap cekaman hiperosmosis atau berkurang saat menanggapi cekaman hipoosmosis, tidak dianalisis pada percobaan ini. Hasil dari penyelidikan sebelumnya berpendapat bahwa peningkatan tersebut disumbangkan oleh asam-asam amino hasil metabolisme aerob (Zurburg dan de Zwaan, 1981) dan/atau hasil hidrolisis protein (Deaton *et al.*, 1984). Matshusima (1988) menyimpulkan bahwa peningkatan AABI dapat diinduksi oleh suatu peningkatan keosmolaran eksternal sendiri tanpa faktor ion, namun beberapa ion seperti Ca^{2+} dan Na^+ transmembran diperlukan untuk mengatasi kebocoran akumulatif asam-asam amino dari sel.

Penurunan AABI akibat cekaman hipoosmosis, mungkin terutama karena adanya aliran asam-asam amino tertentu yang keluar dari ruang intraseluler ke ruang ektraseluler (Amende dan Pierce, 1980). Selain itu asam-asam amino intraseluler mungkin diuraikan seperti yang ditunjukkan oleh peningkatan konsentrasi amonia baik di dalam hemolimfa maupun laju ekskresi amonia, atau kalau ada mungkin diubah menjadi protein (Bartberger dan Pierce, 1976). Kemungkinan lainnya yaitu transformasi asam-asam amino bebas menjadi senyawa-senyawa intraseluler (Matshusima *et al.*, 1989).

Selain ukuran unggun AABI, komposisi AABI juga memainkan peranan yang penting pada pengaturan volume sel (Matshusima *et al.*, 1989). Menurut Pierce (1981), komposisi AABI bervariasi dari spesies ke spesies, dan mungkin bervariasi dari sel ke sel. Pada penelitian ini, komposisi AABI tidak dianalisis.

Kijing mempunyai kemampuan untuk mengisolasi diri dari lingkungannya dengan mengatupkan cangkangnya erat-erat. Ini tampak jelas ketika mereka dihadapkan pada cekaman hiperosmosis. Pada salinitas antara 10 dan 25 ppt, cangkang mereka selalu terkatup sampai ajalnya. Ketika mereka berada di dalam konsentrasi 5 ppt, tekanan osmosis cairan yang berada di dalam mantel meningkat drastis setelah tiga jam. Setelah itu peningkatannya melambat. Selain itu, setelah percobaan berakhir tekanan osmosis itu tidak mencapai tekanan osmosis medianya. Gilles (1972) mengamati fungsi cangkang yang sama pada kerang laut *Mytilus edulis* dan *Glycimeris glycimeris* dalam menghadapi cekaman osmosis. Dalam percobaan ini, kijing yang diaklimatisasi di dalam konsentrasi 5 ppt tidak memerlukan cangkang untuk perlindungan ketika mereka dipindahkan ke air tawar. Hanya tiga jam setelah pemindahan, tekanan osmosis cairan mantel turun hingga mencapai konsentrasi media air tawarnya.

Untuk kijing yang mengalami cekaman hiperosmosis ketika dipelihara di dalam konsentrasi 5 ppt, pengaruh terbuka atau terkatupnya cangkang pada tekanan osmosis hemolimfa sangat jelas. Dengan cangkang terbuka, kijing mempertahankan tekanan osmosis hemolimfanya selama enam jam pada kondisi awal. Sedangkan dengan cangkang terkatup, kijing masih mempertahankan tekanan yang sama selama 12 jam. Pada Gambar 6 terlihat bahwa hingga selesai percobaan, tekanan osmosis kijing dengan cangkang terkatup masih lebih rendah dari tekanan osmosis kijing dengan cangkang terbuka. Pengaruh ini dapat juga dilihat dari konsentrasi ion hemolimfa (Gambar 7).

Hasil yang kontras diperoleh pada kijing yang diaklimatisasi pada 5 ppt dan kemudian dipindah ke air tawar. Dalam kasus ini, pengaruh terbukanya cangkang terhadap perubahan tekanan osmosis hemolimfa tidak begitu nampak. Sungguh menarik bahwa tiga jam setelah pemindahan, tekanan osmosis hemolimfa tidak turun dengan segera sampai taraf kontrol walaupun mereka menghadapi cekaman hipoosmosis yang cepat. Kijing tersebut dengan atau tanpa cangkang terbuka membutuhkan waktu lebih dari 72 jam untuk mencapai tekanan osmosis hemolimfa yang sama dengan kijing yang sejak awal dipelihara di dalam air tawar.

Kemampuan kijing menggunakan cangkang mereka untuk melindungi diri dari cekaman osmosis tampak pula dari perubahan bobot badan mereka. Peningkatan dan penurunan bobot badan selalu lebih rendah pada kijing dengan cangkang terkatup daripada pada kijing dengan cangkang terbuka. Sehingga dapat disimpulkan bahwa cangkang memainkan peranan yang penting dalam menghadapi cekaman hiperosmosis, sedikitnya selama 72 jam. Selain itu, keseimbangan agaknya dapat lebih cepat dicapai oleh kijing yang dikembalikan ke air tawar setelah mengalami cekaman hiperosmosis daripada mereka yang ditempatkan dalam air asin.

Di alam, mekanisme membuka dan mengatupnya cangkang mungkin mempunyai arti penting dalam mempertahankan hidup, khususnya jika mereka hidup di daerah yang tidak menguntungkan seperti di kolam yang dapat kering pada musim kemarau. Hiscock (1950, 1953b) melaporkan adanya fenomena ini. Ia mencatat bahwa *H. australis* mampu bertahan hidup tanpa air untuk sedikitnya tiga bulan di laboratorium pada suhu 22^{0}C. Sedangkan Walker (1981) memperlihatkan bahwa adanya cangkang memungkinkan *V. ambiguus* hidup lebih dari satu tahun (377 hari) tanpa air pada suhu ruangan 18^{0}C.

DAFTAR PUSTAKA

Amende L. M. and S.K. Pierce. 1980. Free Amino Acid Mediated Volume of Isolated *Noetia panderosa* Red Blood Cells: Controlled by Ca and ATP. *J. Comp. Physiol.* **138**:291-298.

Bartberger, C.A. and S.K. Pierce, Jr. 1976. Relationship between Ammonia Excretion Rates and Haemolymph Nitrogenous Compound of Euryhaline Bivalves during Low Salinity Acclimation. *Biol. Bull.* **150**:1-14.

Deaton L.E. 1981. Ion Regulation in Freshwater and Brackish Water Bivalve Molluscs. *Physiol. Zool.* **54**:109-121.

Deaton L.E., J.G.S. Derby, N. Subhedar, and M. J. Greenberg. 1989. Osmoregulation and Salinity Tolerance in Two Species of Bivalve Mollusc: *Limnoperna fortunei* and *Mytilopsis leucophaeta*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **133**:67-79.

Gainey, L.F. and M.J. Greenberg. 1977. Physiological Basis of the Species Abundance-Salinity Relationship in Molluscs: A Speculation. *Mar. Biol.* **40**:41-49.

Gilles, R. 1972. Osmoregulation in Three Molluscs: *Acanthochitona discrepans* (Brown), *Glycymeris glycymeris* (L.), and *Mytilus edulis* (L.). *Biol. Bull.* **142**: 25-35.

Gilles, R. 1979. Intracellular Organic Osmotic Effectors, p. 1-154. *In* R. Gilles (ed.), *Mechanisms of Osmoregulation in Animals.* Brisbane: John Wiley & Son.

Hanson J.A. and T.H. Dietz. 1976. The Role of Free Amino Acids in Cellular Osmoregulation in the Freshwater Bivalve *Ligumia subsrostrata* (Say). *Can. J. Zool.* **54**:1927-1931.

Hill, R.W. 1976. *Comparative Physiology of Animals: An Environmental Approach.* New York: Harper and Row.

Hiscock, I.D. 1950. Shell Movements of the Freshwater Mussel, *Hyridella australis* Lam. (Lamellibranchiata). *Aust. J. Mar. Fresh. Res.* **1**: 259-268.

Hiscock, I.D. 1953a. Osmoregulation in Australian Freshwater Mussels (Lamellibranchiata). II. Respiration and Its Relation to Osmoregulation in *Hyridella australis* (Lam.). *Aust. J. Mar. Fresh. Res.* **4**:330-342.

Hiscock, I.D. 1953b. Osmoregulation in Australian Freshwater Mussels (Lamellibranchiata). I. Water and Chloride Exchange in *Hyridella australis* (Lam.). *Aust. J. Mar. Fresh. Res.* **4**:317-329.

Lucas, S. J. **1991**. *Environmental Physiology.* Practical Course. Queensland: James Cook University of North Queensland.

Matshusima, O. 1988. Accumulation and Conservation of Free Amino Acids in Isolated Bivalve Foot Muscle Exposed to Hyperosmotic Conditions. *Comp. Biochem. Physiol.* 90A(2):349-353.

Matshusima O., H.R. Kahn, and .S.M. Saleuddin. 1989. Changes in Free Amino Acids Concentrations in Tissues of the Freshwater Pulmonate, *Helisoma duryi*, during Hypertonic Stress. *Comp. Biochem. Physiol.* 94A(4):653-657.

Pierce, S.K.Jr. 1971. A Source of Solute for Volume Regulation in Marine Mussels. *Comp. Biochem. Physiol.* 38:619-635.

Pierce, S.K.Jr. 1982. Invertebrate Cell Volume Control Mechanism: A Coordinated Use of Intracellular Amino Acids and Inorganic Ions as Osmotic Solute. *Biol. Bull.* 163: 405-419.

Rorive, G. and R. Gilles. 1979. Intracellular Inorganic Osmotic Effectors, p. 83-109. *In* R. Gilles. (ed.), *Mechanisms of Osmoregulation in Animals.* Brisbane: John Wiley & Son.

Schmidt-Nielsen, K. 1983. *Animal Physiology: Adaptation and Environment.* 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Virkar, R.A. and K.L. Webb. 1970. Free Amino Acids Composition of the Soft-Shell Clam *Mya arenaria* in Relation to Salinity of the Media. *Comp. Biochem. Physiol.* 32:775-783.

Walker, K.F. 1981. Ecology of Freshwater Mussels in the River Murray. *Australian Water Resources Council Technical Paper.* No. 63.

Zurburg, W. and A.de Zwaan. 1981. The Role of Amino Acids in Anaerobiosis and Osmoregulation in Bivalves. *J. Exp. Zool.* 215:315-325.