

Tabel 2 Aplikasi Microcarrier dalam E iomedis

No	Material	Aplikasi	Ukuran Pori	Jenis Sel	Hasil	Sumber
1	Gelatin (Gelaspheres, Lachema A.S)	Cell Growth	microporous	Granulosa cells (GC)	Kulturisasi sel menggunakan <i>microcarrier</i> Gelaspheres dengan diameter 100 - 150 μm dilakukan selama 4 hari menghasilkan <i>yield</i> $3,8 \times 10^5/\text{culture}$.	Stoklosowa dkk [1996]
2	Polyethylene (Cytoline 2, Pharmacia Biotech)	Cell Growth	microporous	mouse hybridoma cells	Kulturisasi sel dilakukan pada <i>protein free medium</i> , dengan konsentrasi sel maksimum yang dihasilkan setelah 3 hari adalah $0,3 \times 10^6 \text{ cells ml}^{-1}$	Voigt dan Zintl [1999]
3	Polyethylene (Cytoline 2, Pharmacia Biotech)	Produksi Antibodi monoklonal	microporous	mouse hybridoma cells	Percobaan dilakukan pada <i>protein free medium</i> dengan penambahan 2 ml <i>microcarrier</i> . Konsentrasi maksimum antibodi yang dihasilkan adalah $0,6 \times 10^6 \text{ cells ml}^{-1}$	Voigt dan Zintl [1999]
4	Dextran (Cytodex 1, Pharmacia Fine Chemicals)	Cell Growth	microporous	Vero cells (Africa Green Monkey)	Produksi sel tertinggi didapatkan pada kulturisasi sel dengan konsentrasi <i>microcarrier</i> 10^{10} mg/ml setelah 7 hari.	Mendonza dan Pereira [1995]
5	Dextran beads yang dilapisi dengan kolagen babi (Cytodex 3, Pharmacia Biotech)	Produksi Vaksin Rabies	microporous	Vero cells (Africa Green Monkey)	Vero cell diinokulasi dan dikembangkan untuk produksi vaksin. <i>Microcarrier</i> tersusun dari bahan biokerasamik berpori. Penggunaan <i>microcarrier</i> berbahan keramik masih terbatas pada kulturisasi sel, dan perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk produksi produk biologis. Pada tabel 2 dapat dilihat <i>yield</i> dari kulturisasi sel pada <i>microcarrier</i> tidak lebih tinggi daripada berbahan biokeramik. Namun kulturisasi hanya berlangsung selama ± 7 hari (jangka pendek). Sementara <i>porous</i> selama 3 hari. Jumlah <i>titre</i> virus yang dihasilkan adalah $104.\text{FFD}50/0.05 \text{ ml}$	Frazatti-Gallina dkk [2004]
6	Biokeramik (<i>Hydroxypapatite</i>)	Drug release	microporous		Pengujian dilakukan dengan	Injtema dkk [1994]

microcarrier lebih sesuai untuk kulturisasi jangka panjang karena densitas sel tinggi. Hal ini menjadikan kulturisasi dengan *porous microcarrier* lebih stabil.

No	Material	Aplikasi	Ukuran Pori	Jenis Sel	Hasil	Sumber
7	Selulosa dengan isian positif (Cellsnow (+ve), Kirin Ltd)	Produksi Vaksin Influeza	± 100 µm	Madin–Darby canine kidney (MDCK) cells	ditambahkan ke <i>microcarrier</i> dan disuntikkan ke otot kel jaringan lunak telah sepenuhnya menyerap <i>hydroxyapatite</i> -BSA. Kulturisasi sel dilakukan dengan menggunakan <i>shake flask</i> . 100 ml medium Episerf dan 6 x 10 ⁶ sel MDCK ditambahkan ke dalam 250 ml erlemenyer. Kemudian diinokulasi dengan virus dan digoncang dengan kecepatan 80 rpm pada suhu 37°C. Yield yang dihasilkan adalah 2,8x10 ⁶ PFU/cm ² .	Tree dkk [2001]
	Kaca (glass beads, Schott)	Produksi Antibodi monoklonal	60 - 300 µm	Mouse murine hybridoma cell from	Kulturisasi dilakukan menggunakan <i>packed-bed reactor</i> dengan jumlah sel awal 10 ⁶ per ml <i>microcarrier</i> dan penambahan 2% serum. Kulturisasi selama 3 bulan dihasilkan Mab 10,7 mg mAb / g glukosa pada <i>protein free medium</i> .	Reiter dkk [1992]
	Biokeramik (Hydroxyapatite – Alginate) yang dilapisi CaCl ₂	Cell growth	<i>microporous</i>	Mesenchymal stem cells (MSCs)	Berdasarkan pengamatan viabilitas sel, sel masih terlihat setelah dikulturisasi selama 14 hari, serta sel menunjukkan kemampuan untuk membentuk jaringan dan menghubungkan <i>microcarrier</i> yang berdekatan.	Feng dkk [2013]
	Campuran Poly(D,L-lactide)	Perbaikan jaringan	50–100 µm	Rat primary articular chondrocytes	Setelah dikulturisasi selama 14 hari menggunakan	36 Jin dan Kim [2016]



(PLDLA) dan

cell

spinner flasks,



Repository University Of Riau
PERPUSTRAKRRIU UNIVERSITAS RIRU

<http://repository.unri.ac.id/>

Aplikasi dalam Biomedik

Kultivasi sel menggunakan teknologi *microcarrier* telah berhasil dilakukan untuk lebih dari 100 jenis sel, termasuk sel primer, *transformed cell strains*, dan lini sel dari mamalia, burung, ikan [Gebb dkk, 1982]. Sejak pertama kali dikembangkan oleh Van Wezel pada tahun 1967, *microcarrier* telah banyak digunakan dalam bidang medis, beberapa diantaranya sebagai berikut.

Produksi Vaksin

Saat ini vaksin terdapat beberapa metode untuk memproduksi vaksin yaitu menggunakan virus inaktif, produksi vaksin menggunakan beberapa komponen protein virus (vaksin subunit), vaksin dari DNA virus yang digabungkan dalam satu plasmid, produksi vaksin menggunakan telur berembrio. Semua teknik produksi vaksin tersebut memiliki kelemahan yang sama yaitu diperlukan waktu yang lama dan medium yang banyak.

Beberapa vaksin yang telah diproduksi menggunakan sistem *microcarrier* adalah vaksin polio, rubella, rabies, influenza, serta penyakit kaki dan mulut [Kim dan Choi, 1985]. Keuntungan produksi vaksin menggunakan *microcarrier* adalah dapat meningkatkan produktivitas, biaya lebih murah, dan mengurangi resiko terkontaminasi dibandingkan metode kultur lainnya.

Pada tahun 2003 Kistner dkk melakukan percobaan kultivasi virus influenza menggunakan teknologi *microcarrier* dengan media vero (*African Green Monkey cells*). Hasilnya mayoritas reaksi lokal yang diamati pada 7 studi dengan 9 lot vaksin yang berbeda selama 4 musim influenza cukup ringan, sangat sedikit memberikan reaksi yang menengah, dan tidak ada yang memberikan reaksi yang parah. Kasus efek samping sistemik minimal. Frekuensi dan derajat keparahan reaksi lokal dan sistemik dari vaksin virus influenza yang diproduksi dengan media Vero adalah sebanding dengan vaksin influenza yang diperoleh dari media telur.

Produksi Interferon

Kultivasi *human fibroblast interferon* menggunakan *microporous carrier Cytodex. Human diploid fibroblasts*, FS-4 and MRC-5 ditanamkan pada *microcarrier*. Proses dilakukan pada pH 7,4 dan konsentrasi serum 5% dengan yield 5×10^5 cell/ml [Kim dan Choi, 1985].

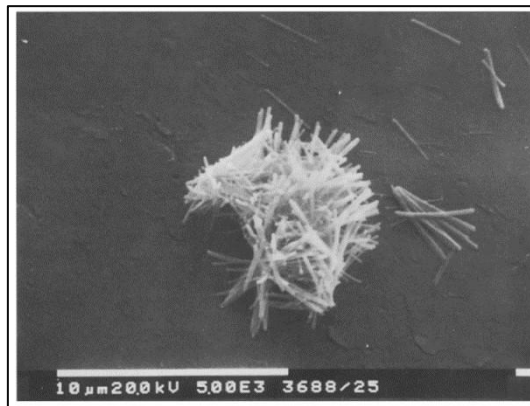
Tissue Regeneration

Penggunaan *microcarrier* untuk memulihkan fungsi jaringan dan organ yang rusak atau mengalami degenerasi dilakukan oleh Nagaki dkk [1990]. *Microcarrier* kolagen yang diisi dengan sel hepatosit ditransplantasi secara *intraperitoneal* ke tikus yang mengalami gagal liver akut. Hasilnya, *microcarrier* dapat mendukung metabolisme tubuh dengan cara mendetoksifikasi ammonia serta sistem albumin untuk memulihkan fungsi liver.

Drug controlled release

Pada tahun 1994 Injema dkk melakukan penelitian *hydroxyapatite microcarrier* sebagai bahan *bioresorbable* untuk pengatur pelepasan obat berbahan protein. Pengujian dilakukan dengan cara mengkristalisasi *hydroxyapatite* yang telah ditambahkan protein. Dari nukleus kecil *hydroxyapatite* berkembang menjadi partikel jarum – jarum yang menyatu membentuk bintang [Gambar 6] pada suhu 100°C dan mengkristal pada suhu kamar. *Hydroxyapatite* kristal yang ditambah dengan Bovine serum albumin (BSA), asam

protein dengan pH 4,7 dan disuntikkan ke otot kelinci. Analisa in vivo dilakukan setelah 1 bulan dan hasilnya jaringan lunak telah sepenuhnya menyerap *hydroxyapatite*-BSA.



Gambar 6. Hasil SEM kristal *Hydroxyapatite Carrier* yang diisi BSA [Injtema dkk, 1994].

Aplikasi teknologi microcarrier telah dilakukan baik dalam skala laboratorium ataupun industri. Sel hasil kulturisasi menggunakan *microcarrier* juga dapat digunakan untuk studi tentang fungsi sel, metabolisme, diferensiasi, transfer sel dan subkulturisasi tanpa menggunakan enzim proteolitik, transportasi dan penyimpanan, isolasi membran, dan pemanenan sel mitosis [Pharmacia Fine Chemicals, 1981].

Kelebihan

- Kulturisasi sel menggunakan *microcarrier* memberikan beberapa keuntungan yaitu :
- Bentuk partikelnya yang sferikal memberikan luas permukaan yang besar terhadap rasio volume, sehingga meningkatkan keterikatan sel, migrasi, dan proliferasi dalam kulturisasi in vitro [Barrias dkk, 2005].
 - Kulturisasi dalam bentuk suspensi sehingga tidak diperlukan densitas sel yang tinggi, dan *yield* 100 kali lipat dibandingkan kulturisasi *monolayer*. Penerapan *microcarrier* dapat meningkatkan jumlah sel induk dalam beberapa kasus [Goh dkk, 2013; Kehoe dkk, 2010].
 - Kulturisasi menggunakan *microcarrier* lebih sederhana dibandingkan dengan prosedur lainnya. Medium dapat dengan mudah dilepas dari sel dan mengurangi resiko terkontaminasi [Crespi dan Thilly, 1981 ;Guldiken, 2014].

Kekurangan

Beberapa *microcarrier* harus terlebih dahulu dicuci dan diberi *pretreatment* sebelum digunakan. Scale-up menggunakan sel yang dihasilkan dari kulturisasi menggunakan *microcarrier* lebih kompleks dan perhitungan sel membutuhkan teknik yang khusus. Pemanenan sel dari *macroporous carrier* bahkan lebih sulit dikarenakan densitasnya yang lebih besar. Ditambah densitas *carrier* yang besar akan membuat proses menginfeksi sel secara simultan bertambah sulit. Pori *macroporous carrier* yang besar akan menghalangi difusi nutrisi untuk beberapa sel. Perhitungan [Czemark dkk, 2009].

Aplikasi potensial

Beberapa tahun terakhir telah dilakukan pengujian *microcarrier* untuk ekspansi sel darah dengan teknik imobilisasi *hematopoietic stem cells* di dalam bioreaktor, ekspansi *cytotoxic lymphocytes* untuk menghasilkan sel yang cukup pada terapi sel. Beberapa aplikasi lainnya sel dienkapsulasikan ke dalam kapsul (untuk melindungi sel dari sistem imun) kemudian ditranplantasi [Edginton, 1992]. Pertumbuhan sel pada *degradable microcarrier* dan menggunakan seluruh sel/carrier dalam transplantasi juga menjadi prospek yang menjanjikan. [Schugens dkk, 1995].

Ucapan Terima Kasih

Makalah ini dibuat atas bantuan dari Kemeristek DIKTI melalui program INSINAS 2016.

Daftar pustaka

- Bancel, S. Dan Hu, W. S. (1996). Confocal Laser Scanning Microscopy Examination of Cell Distribution in Macroporous Microcarriers. *Biotechnology Progress*. 12: 398–402.
- Barrias, C.C., Ribeiro, C. C., Barbosa, M. (2004). Adhesion and Proliferation of Human Osteoblastic Cells Seeded on Injectable Hydroxyapatite Microspheres. *Key Engineering Materials*. 254-256: 877 – 880.
- Barrias, C. C., Ribeiro, C. C., Lamghari, M., Miranda, C. S., Barbosa, M. A. (2005). Proliferation, Activity, and Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Stromal Cells Cultured on Calcium Titanium Phosphate Microspheres. *Journal of Biomedical Material Research*. 72: 57–6.6
- Botchwey, E. A., Pollack, S.R., Levine, E.M., Laurencin, C.T. (2001). Bone Tissue Engineering in A Rotating Bioreactor Using A Microcarrier Matrix System. *Journal of Biomedical Material Research*. 55: 242–253.
- Crespi, C. L. Dan Thilly, W. G. (1981). Continuous Cell Propagation Using Low-Charge Microcarriers. *Biotechnology Bioengineering*. 23: 983–993.
- Czermak, P., Pörtner, R., dan Brix, A. (2009). Special Engineering Aspects dalam Eibl, R., Eibl, D., Pörtner, R., Catapano, R., Czermak, P Cell and Tissue Reaction Engineering. Springer, Berlin.
- Doctor, J. (2002) Evaluating Microcarriers for Delivering Human Adult Mesenchymal Stem Cells in Bone Tissue Engineering. *Developmental Biology*. 247: 505 – 514.
- Eckert, K. L., Mathey, M., Mayer, J., Homberger, F.R., Thomann, P.E., Groscurth, P., Wintermantel, E. (2000). Preparation and in vivo Testing of Porous Alumina Ceramics for Cell Carrier Applications. *Biomaterials*. 21 : 63 – 69.
- Edginton, S. M. (1992). New horizons for stem-cell reactors. *Biotechnology*. 10: 1099–1106.
- Feng, J., Chong, M., Chan, J., Zhang, Z. Y., Teoh, S. H., Thian, E. S. (2013). Apatite-Based Microcarriers for Bone Tissue Engineering. *Key Engineering Materials* : 529 : 34-39.
- Frazatti-Gallina, N. M., Mourão-Fuches, R. M., Paoli, R. L, Silva, M. L., Miyaki, C., Valentini, E. J., Raw, I., Higashi, H. G. (2004). Vero-cell rabies vaccine produced using serum-free medium. *Vaccine*. 23 :511-517.
- Freed, L. E., Marquis, J.C., Nohria, A., Emmanuel, J., Mikos, A. G., Langer, R. (1993). Neocartilage Formation In Vitro and In Vivo Using Cells Cultured on Synthetic Biodegradable Polymers. *Journal of Biomedical Material Research*. 27:11 – 23
- GE Healthcare. (2013). Microcarrier Cell Culture Principles and Methods. GE Healthcare Bio-Sciences: Sweden.

- Gebb, C., Clark, J., Hirtenstein, M., Lindgren, G., Lindskog, U., Lundgren, B., Vretblad, P. (1982). Alternative Surfaces for Microcarrier Culture of Animal Cells. *Development Biological Standart.* 50:93-102.
- Goh, T. K.P., Zhang, Z. Y., Chen, A. K. L., Reuveny, S., Choolani, M., Chan, J. K. Y., dan Oh, S. K.-W. (2013). Microcarrier Culture for Efficient Expansion and Osteogenic Differentiation of Human Fetal Mesenchymal Stem Cells. *BioResearch Open Access.* 2: 84–97.
- Güldiken, M. (2014). *Simvastatin Loaded Porous Hydroxyapatite Based Microcarriers For Bone Tissue Engineering.* Tesis Master. Middle East Technical University.
- Ijntema, K., Heuvelsland, W. J. M., Dirix, C. A. M. C., Sam, A. P. (1994). Hydroxyapatite Microcarriers for Biocontrolled Release of Protein Drugs. *International Journal of Pharmaceutics.* 112: 215-224
- Ishii, T., Saito, H., Komizu, Y., Tomoshige, R., Matsushita, T. (2016). Effects of Macroporous Hydroxyapatite Carriers on The Growth and Function of Human Hepatoblasts Derived from Fetal Hepatocytes. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 122: 240 – 245.
- Jin, G. Z. Dan Kim, H. W. (2016). Porous Microcarrier-Enabled Three-Dimensional Culture of Chondrocytes for Cartilage Engineering: A Feasibility Study. *Tissue Engineering Regeneration Medicine.* 13:235-241.
- Kehoe, D. E., Jing, D., Lock, L. T., Tzanakakis, E. S. (2010). Scalable Stirred-Suspension Bioreactor Culture. *Tissue Engineering: Part A.* 16: 405-421.
- Keller, J. (1991). Entwicklung und Charakterisierung eines Fließbettreaktors für tierische Zellkulturen. Dissertation an der ETH, Zürich.
- Kim, D. I., dan Choi, C.Y. (1985). Microcarrier Cell Culture and its Application to The Large-Scale Production of Human Fibroblast Interferon. *Korean Journal of Chemical Engineering.* 2: 33-39.
- Kistner, Otfried, Baxter Vaccine AG. A Novel Cell-Derived Influenza Vaccine. National Influenza Summit, Chicago. 21 Mei 2003.
- Li, B., Xin, W., Yu, W., Wenlong, G., Xueling, Y., Jiang, P., Quanyi, G., dan Shibi, L. (2015) . Past, Present, and Future of Microcarrier Based Tissue Engineering. *Journal of Orthopaedic Translation.* 3 :51 – 57.
- Lindskog, U., Lundgren, B., Wergeland, I., dan Billig, D. (1985). Microcarrier Cell Culture: Vero Cells on Cytodex®. *Journal of Tissue Culture Methods.* 9 : 205 – 210.
- Malda, J., dan Frondoza, C. G. (2006). Microcarriers in The Engineering of Cartilage and Bone. *Trends in Biotechnology.* 24 : 299 – 304.
- Malda, J., van Blitterswijk, C. A., Grojec, M., Martens, D. E., Tramper, J., Riesle. J. (2003). Expansion of Bovine Chondrocytes on Microcarriers Enhances Redifferentiation. *Tissue Engineering.* 9 :939-948.
- Martens, D. E., Nollen, E. A. A., Hardeveld, M., Van der Velden-de Groot, C. A. M., De Gooijer, C. D., Beuvery, E. C., Tramper, J. (1996). Death Rate in a Small Air-lift Loop Reactor of Vero Cells Grown on Solid Microcarriers and in Macroporous Microcarriers. *Cytotechnology.* 21: 45–59.
- Melde, B. J., dan Stein, A. (2002) Periodic Macroporous Hydroxyapatite-Containing Calcium Phosphates. *Chemical Material.* 14: 3326-3331.
- Mendonza, R. Z. Dan Pereira, C. A. (1995). High Density Vero Cell Culture on Microcarriers in A Cell Bioreactor. *Bioprocess Engineering.* 12 : 279 282.
- Mestries, P., Borchiellini, C., Barbaud, C., Duchesnay, A., Escartin, Q., Barritault, D., Caruelle, J. P., Kern, P. (1998). Chemically Modified Dextran Modulate Expression

- of Collagen Phenotype by Cultured Smooth Muscle Cells in Relation to The Degree of Carboxymethyl, Benzylamide, and Sulfation Substitutions. *Journal Biomedical Material Research*. 42: 286–294.
- Nagaki, M., Kano, T., Muto, Y., Yamada, T., Ohnishi, H., Moriwaki, H. (1990). Effects of Intraperitoneal Transplantation of Microcarrier Attached Hepatocytes on D-Galactosamine-Induced Acute Liver Failure in Rats. *Gastroenterologia Japonica*. 25:78 – 87.
- Pharmacia FineChemicals. (1981). Microcarrier Cell Culture; Principles and Methods. Technical book series : Sweden.
- Pettersson, S., Wettero, J., Tengvall, P., Kratz, G. (2011). Cell Expansion of Human Articular Chondrocytes on Macroporous Gelatine Scaffolds-Impact of Microcarrier Selection on Cell Proliferation. *Biomedical Materials*. 6: 065001.
- Qiu, Q., Ducheyne, P., Ayyaswamy, P. S. (2001). 3D Bone Tissue Engineered with Bioactive Microspheres In Simulated Microgravity. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*. 37: 157–165
- Reiter, M., Blüml, G., Zach, N., Gaida, T., Kral, G., Assadian, A., Schmatz, C., Strutzenberger, K., Hinger, S., Katinger, H. (1992). Monoclonal Antibody Production Using The Porous Glass Bead Immobilization Technique - Serum-free perfusion. *Annals New York Academy of Sciences*. 665: 146–151.
- Rodrigues, M.E., Costa, A.C., Fernandes, P., Henriques, M., Cunnah, P., Melton, D.W., Azeredo, J., Oliveira, R. (2013). Evaluation of Macroporous and Microporous Carriers for CHO-K1 Cell Growth and Monoclonal Antibody Production. *Journal Microbiology Biotechnology*. 23 :1308–1321.
- Sautier, J., Nefussi, J., Forest, N. (1992). Mineralization and Bone Formation on Microcarrier Beads with Isolated Rat Calvaria Cell Population *Calcified Tissue International*. 50: 527–532.
- Schugens, C., Grandfils, C., Jerome, R., Teysie, P., Delree, P., Martin, D., Malgrange, B., Moonen, G. (1995). Preparation of a Macroporous Biodegradable Polylactide Implant for Neuronal Transplantation. *Journal of Biomedical Material Research*. 29:1349–1362.
- Sopyan, I., Fadli, A. dan Mel, M. (2012). Porous Alumina–Hydroxyapatite Composites through Protein Foaming–Consolidation Method. *Journal of Mechanical Behaviour Biomedical Material*. 8 : 86–98.
- Stoklosowa, S., Lesko, J., Kusina, E., Galas, J. (1996). Microcarrier Culture: A Different Approach to Granulosa Cell Cultivation. *Cytotechnology*. 19: 167-172.
- Tree, J. A., Richardson, C., Fooks, A. R., Clegg, J. C. Looby, D. (2001). Comparison of Large-Scale Mammalian Cell Culture Systems with Egg Culture for The Production of Influenza Virus A Vaccine Strains. *Vaccine*. 19 : 3444– 3450.
- Van Wezel, A. L. (1967). Growth of Cell-strains and Primary Cells on Microcarriers in Homogeneous Culture. *Nature*. 216:64-65.
- Voigt, A dan Zintl, F. (1999). Hybridoma Cell Growth and Anti-Neuroblastoma Monoclonal Antibody Production in Spinner Flasks Using A Protein-Free Medium with Microcarriers. *Journal of Biotechnology*. 68 : 213 – 226.
- Warnock, J. Dan Al-Rubeai, M, (2005). Production of Biologics from Animal Cell Cultures in Nedovic, V dan Willaert, R Applications of Cell Immobilisation Biotechnology Volume 8B. Springer, Netherlands.