

TPM 05

Teknologi Microcarrier di dalam Aplikasi Biomedik: Review

Ahmad Fadli, Dwi Yerlis Rahmi, Febliil Huda, Megawati Dwi Pertiwi

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau Jl.

HR. Subrantas Km 12,5 Panam, Pekanbaru 28293 Riau

dwiyerlis@gmail.com

Abstrak

Microcarrier adalah matriks pendukung yang merupakan teknik kulturisasi sel di dalam bioreaktor. Seiring dengan perkembangan bioteknologi *microcarrier* menjadi teknologi yang penting untuk produksi vaksin, protein rekombinan, antibodi, enzim, dan hormon. Berdasarkan sifat fisiknya *microcarrier* dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu *microcarrier* padat dan *microcarrier* cair. Salah satu faktor penting dalam produksi *microcarrier* adalah material yang digunakan. Sumber material *microcarrier* dapat berupa material sintesis maupun biomaterial. Meskipun *microcarrier* dari material sintesis memiliki reproduktifitas dan sifat mekanis yang baik namun kurang dapat mengenali sel, yang berdampak pada *adhesi* dan pertumbuhan sel serta suhu sterilisasi yang tinggi. Selain itu *microcarrier* dapat berbentuk *microporous* ataupun *macroporous*. *Microporous carrier* memiliki pori sangat kecil sehingga tidak bisa dimasuki oleh sel. *Microporous carrier* memungkinkan sel untuk membentuk lingkungan mikro di dalam *beads*. Namun ketika *microcarrier* ini sepenuhnya kofluen dapat terbentuk lingkungan yang berbeda di dalam dan di luar *beads*. Perkembangan terbaru dalam teknologi *microcarrier* adalah *macroporous carrier*. Ukuran pori rata – rata *macroporous carrier* adalah 30 – 400 μm dengan porositas 60 – 99%. Pori yang besar ini memungkinkan sel dengan mudah masuk dan berkembang biak di dalam *microcarrier*. Melihat pentingnya teknologi *microcarrier* dalam bidang biomedis, maka pada makalah ini akan kami paparkan pengembangan *microcarrier* terbaru yang menggunakan bahan dasar keramik termasuk aplikasi *microcarrier* di dalam biomedik.

Kata Kunci : Bioteknologi, Biomaterial, Keramik, *Macroporous*, *Microcarrier*.

1.0 PENDAHULUAN

Teknologi *microcarrier* pertama kali dipekenalkan oleh Van Wezel pada tahun 1967 sebagai teknik kulturisasi sel di dalam bioreaktor [Van Wezel, 1967]. Pada awalnya *microcarrier* dikembangkan untuk memperkuat sel dan mempertahankan fenotipe sel tertentu [Pettersson dkk, 2013]. Perkembangan ilmu dan teknologi menjadikan *microcarrier* salah satu teknik kultur yang penting untuk memproduksi produk biologis seperti vaksin, hormon, protein rekombinan enzim dan antibodi.

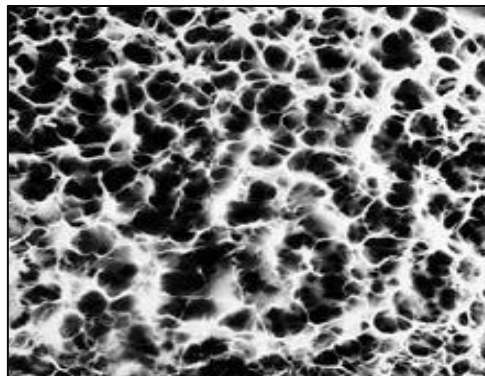
Kulturisasi sel menggunakan teknologi *microcarrier* dikembangkan untuk mendukung perkembang biakan sel yang optimal. Kultursiasi sel dilakukan menggunakan media berbentuk suspensi dengan pengadukan yang lembut [Gebb dkk, 1982]. Parameter kulturisasi seperti pH, ketersediaan nutrisi seperti karbon dan oksigen, serta produksi bahan beracun dapat diatur dengan mudah dibandingkan teknik kulturisasi konvensional monolayer dua dimensi [Lindskog dkk, 1986].

Microcarrier memiliki luas area permukaan yang besar untuk pertumbuhan sel *monolayer* selama pembiakan berlangsung di dalam suspensi homogen. 1 gram *microcarrier* memiliki luas yang sama dengan 15 tabung kulturisasi berukuran 75 cm² [Malda dkk, 2006]. Saat ini telah tersedia berbagai jenis *microcarrier* komersil, yang dapat dipilih sesuai kebutuhan. Beberapa faktor yang harus diperhatikan adalah material, porositas, distribusi ukuran pori, dan densitas [Czemark dkk, 2009]. Berbagai metode juga dikembangkan untuk produksi *microcarrier* untuk meningkatkan produktivitas sel.

Porositas dan ukuran pori

Porositas pada *microcarrier* memungkinkan sel untuk dapat tumbuh secara alami. Penambahan luas permukaan yang dihasilkan oleh porositas juga berkontribusi pada peningkatan kapasitas pertumbuhan sel di dalam *microcarrier* [Melde dan Stain, 2002]. Berdasarkan distribusi ukuran pori *microcarrier* dapat berbentuk *microporous* (*solid carrier*) ataupun *macroporous*. *Microporous carrier* atau *solid carrier* memiliki pori yang kecil sehingga sel hanya dapat menempel dan berkembang biak di permukaan luar *microcarrier* [Rodrigues dkk, 2013]. *Microporous carrier* memungkinkan sel untuk membentuk lingkungan mikro di dalam *beads* untuk mendukung pelekatan dan pertumbuhan sel tanpa penambahan serum [Reiter dkk, 1992]. Namun ketika *microcarrier* ini sepenuhnya koefluen dapat terbentuk lingkungan yang berbeda di dalam dan di luar *beads*.

Pada *microporous carrier* sel tumbuh dipermukaan luar sampai terbentuk monolayer. Setiap *microcarrier* dapat memuat 100 – 200 sel. Untuk mencapai pertumbuhan yang optimal pada setiap *microporous carrier* pendistribusian sel secara merata sangat dibutuhkan. Pada kebanyakan lini sel, lebih dari 7 sel per *microcarrier* dibutuhkan pada saat inokulasi untuk memastikan bagian yang tidak terisi di *microcarrier* kurang dari 5% untuk memaksimalkan penggunaan permukaan yang tersedia [Butler, 2004].

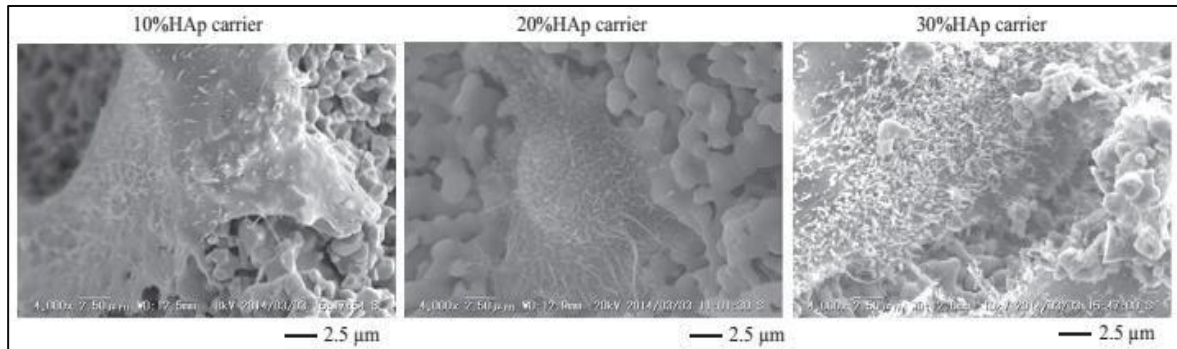


Gambar 1 Struktur *Microporous* Dari *Microcarrier Cytodex* [GE Healthcare, 2013] Ukuran

Pori rata – rata *macroporous carrier* adalah 30 – 400 µm dengan porositas 60 – 99%. Sedangkan diameter rata – rata dari sel di dalam suspensi adalah 10 µm [Czemark dkk, 2009]. Pori *macroporous carrier* yang besar akan memudahkan sel membentuk koloni dan berkembang biak di dalam *microcarrier*. Hal ini menjadikan *macroporous carrier* memiliki luas permukaan lebih besar yang berdampak pada peningkatan densitas sel [Rodrigues dkk, 2013].

Karena densitasnya yang tinggi teknik kulturisasi berbeda diterapkan untuk *macroporous carrier* (tangki berpengaduk untuk *macroporous carrier* dengan jenis reaktor *fix bed* atau *fluidized bed*) biasanya dioperasikan dengan laju perfusi tinggi. Teknik ini dapat

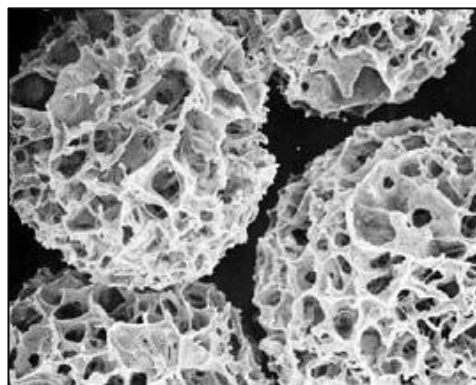
memberikan asupan nutrisi yang cukup sekaligus menghilangkan metabolit beracun. Selain itu, waktu tinggal dari produk ekstraselular pada temperatur 37°C berkurang dan sel dapat dipisahkan dengan cepat dari *microcarrier* untuk kemudian didinginkan [Czemark dkk, 2009].



Gambar 3 Hasil SEM dari SB-treated cells yang ditanam HAp Macroporous Microcarrier Setelah 14 Hari [Ishii dkk, 2016].

Macroporous carrier juga dapat melindungi sel dari kerusakan mekanis yang disebabkan tabrakan antar beads, tabrakan antar beads dan impeller serta interaksi antar bead-eddy [Warnock dan Al-Rubeai, 2005].

Macroporous carrier juga sesuai untuk imobilisasi non-adherent cells, dalam kasus ini sel dipaksa masuk ke dalam matriks dan terperangkap di dalamnya. Macroporous carrier memiliki densitas tinggi yang dapat meningkatkan stabilitas sel dan menambah umur dari kultur. Kelebihan ini menjadikan macroporous carrier sesuai untuk kultur jangka panjang [Martens dkk, 1996].



Gambar 2 Struktur Macroporous dari Microcarrier Cytopore[GE Healthcare, 2013].

Ishii dkk [2016] melakukan penelitian tentang pengaruh ukuran pori macroporous hydroxyapatite carrier untuk pertumbuhan human hepatoblasts (SB-treated cells). Pengujian dilakukan dengan menanam sel di dalam macroporous carrier dengan ukuran pori yang berbeda yaitu 30 -40 µm, 70 – 80 µm, dan 50 -80 µm. Hydroxyapatite microcarrier kemudian diencerkan dengan air untuk mendapatkan HAp carrier dengan konsentrasi 10% dan 20%, sementara untuk mendapatkan HAp 30% dicairkan dengan etanol. HAp 10% memiliki

distribusi ukuran pori 20 – 30 μm . Sementara HAp 20% dan 30% memiliki 2 distribusi ukuran pori tertinggi, yaitu 30 – 40 μm dan 70 – 80 μm 20%, 70 - 80 μm dan 100 – 110 μm untuk Hap 30%. Khususnya HAp 20%, 35% porinya berukuran 50 – 80 μm .

Hasil SEM dari *SB-treated cells* pada Gambar 3 menunjukkan bahwa semua HAp *microcarrier* memiliki ukuran pori mikro berdiameter 1 μm . Sel – sel memperpanjang pseudopodianya untuk menempel di pori – pori HAp *carrier*. Aktivitas sel terlihat sangat banyak di HAp *macroporous carrier* 20%, mencapai tingkat yang sama dengan *primary human hepatocytes* dari hati donor dewasa. Analisa lebih lanjut menunjukkan bahwa pori dengan ukuran 50 – 80 μm memiliki efek yang paling menguntungkan untuk pertumbuhan sel hepatosit manusia.

Ukuran dan Bentuk

Diameter dari *microporous carrier* berkisar antara 10 μm sampai 5 mm. Ukuran ideal *microporous carrier* adalah 100–300 μm . Semakin kecil ukuran *carrier* semakin cocok untuk kulturisasi di reaktor berpengaduk. Sedangkan *macroporous carrier* memiliki ukuran lebih besar karena ukuran porinya bisa sampai 400 μm . Beberapa bentuk *microcarrier* yang telah tersedia adalah serat, *flatdiscs*, *woven discs*, kubus, walaupun yang paling umum digunakan adalah yang berbentuk *sphere* [Czemark dkk, 2009].

Densitas Spesifik

Pemilihan densitas *microcarrier* yang diperlukan ditentukan oleh tujuan aplikasi *microcarrier* tersebut. Densitas spesifik dari *microporous carrier* harus sedikit lebih tinggi dari medium kultur (berkisar 1,02 – 1,10 g/cm^3) agar *microcarrier* dapat bertahan di dalam bioreaktor berpengaduk. Sedangkan *macroporous carrier* berkisar 1,04 – 2,5 g/cm^3 . Namun parameter yang lebih

Tabel 1 Karakteristik *microcarrier* komersil

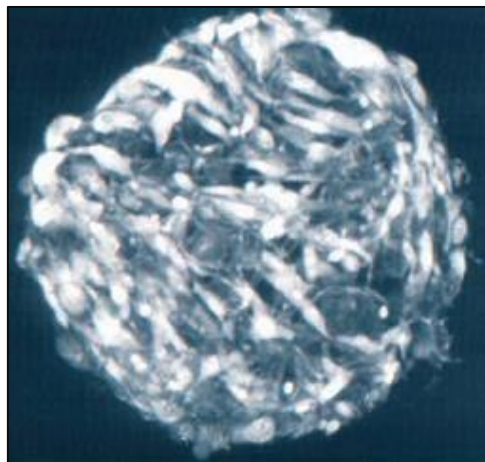
Produk	Densitas (g/mL)	Ukuran (μm)	Material	Produsen
Cytodex-1	1.03	60 – 87	Matriks dextran yang diisi dengan gugus <i>diethylaminoethyl</i>	Amersham Biosciences, Sweden
Cytodex-2	1.04	60 – 87	Matriks dextran dengan gugus <i>N,N,N-trimethyl-2-hydroxyaminopropyl</i>	Amersham Biosciences, Sweden
Cytodex-3	1.04	60 – 87	Butiran dextran yang dilapisi dengan kolagen kulit babi	Amersham Biosciences, Sweden
Cytopore 1	1.03	200 – 280	Selulosa	Amersham Biosciences, Sweden
Cultisphere G	1.04	130 – 380	<i>Cross-linked</i> gelatin babi	PerCELL Biolitica, Sweden
Cultisphere S	1.04	130 – 380	<i>Cross-linked</i> gelatin babi	PerCELL Biolitica, Sweden
Hillex	1.1	150 – 210	Dextran matriks	SoloHill, USA
Glass coated	1.05	90 – 150	Kaca	SoloHill, USA



menentukan sesuai atau tidaknya *microcarrier* yang digunakan untuk kulturisasi sel di dalam bioreaktor adalah kecepatan sedimentasi. Kecepatan kurang dari 30 cm/min kurang efisien untuk mencampur pasokan nutrisi melalui *microcarrier* di dalam reaktor *fluidized bed* [Keller, 1991; Mestries dkk, 1998].

Transparansi

Transparansi *microcarrier* sangat penting pengamatan *microcarrier* menggunakan *light microscope*. Khususnya pada produksi vaksin, sangat diperlukan untuk melihat morfologi sel langsung di dalam *microcarrier* untuk menentukan waktu yang tepat untuk menginfeksi sel atau memanen virus.

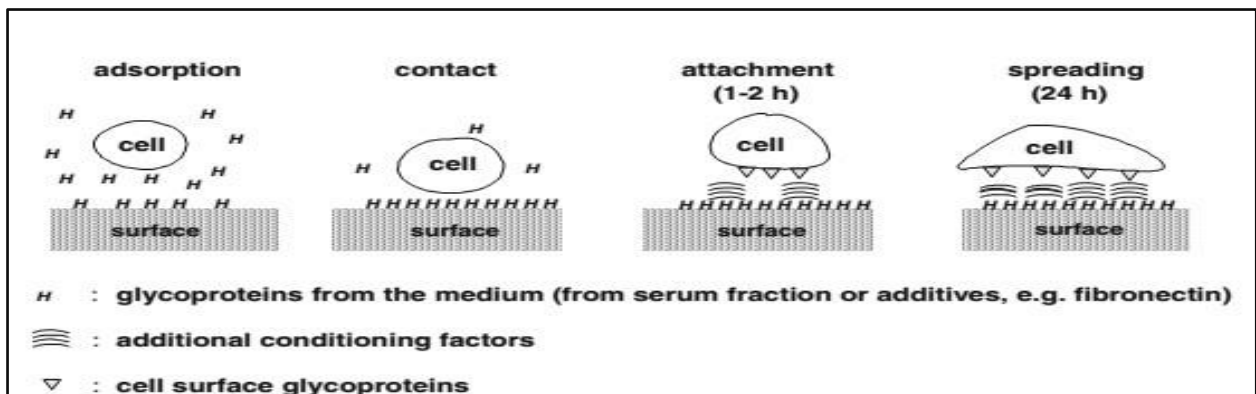


Gambar 4 Hasil *Confocal laser scanning micrograph* dari *vero cell* yang ditanam di *macroporous carrier Cytopore* [GE Healthcare, 2013].

Namun karena *microcarrier* berbentuk 3D dan beberapa material *microcarrier* kurang sesuai diamati menggunakan *light microscope*. Sedangkan pengamatan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) membutuhkan waktu persiapan yang lama dan berpengaruh pada dehidrasi morfologi sel [GE Healthcare, 2013]. Metode pengamatan *microcarrier* yang paling sesuai adalah dengan menggunakan *confocal laser scanning microscopy* [Bancel dan Hu, 1996]. Metode ini memungkinkan untuk membuat *optical section* melalui *microcarrier* dan rekonstruksi 3D.

Material

Salah satu faktor penting dalam produksi *microcarrier* adalah material yang digunakan. Setiap material memiliki sifat fisika, kimia dan geometris berbeda yang akan mempengaruhi toksisitas, hidrofilitas, hidrofobitas, *microporosity*, stabilitas mekanik, difusi oksigen, komponen medium, permeabilitas, densitas, dan bentuk (*form*, ukuran, ketebalan, dll) dari *microcarrier*. Pemilihan material harus disesuaikan dengan kebutuhan kultur, khususnya untuk *adherent cell* yang harus mendorong pelekatan dan penyebaran sel [Czermack dkk, 2009] seperti yang diilustrasikan pada gambar 5.



Gambar 5. Adhesi *anchorage-dependent cells* pada substrat padat [Czermack dkk, 2009]

Material yang telah digunakan untuk produksi *microcarrier* komersil adalah plastik, (*polystyrene, politeylene, polyester, polypropylene*), kaca, akrilamida, silika, karet silikon, selulosa, dekstran, kolagen (gelatin), dan glikosaminoglikan [GE Healthcare, 2013]. Karakteristik *microcarrier* padat komersil disajikan pada Tabel 1.

Meskipun *microcarrier* yang terbuat dari material tersebut memiliki reproduktifitas dan sifat mekanis yang baik, dibutuhkan suhu yang tinggi untuk sterilisasi, selain itu kurang mengenali sel yang berdampak pada adhesi dan pertumbuhan sel [Freed dkk, 1993]. Oleh karena itu dikembangkan *microcarrier* berbahan biokeramik seperti *hydroxyapatite*, alumina, dan TCP. Biokeramik lebih mudah didapat dan *biocompatible* serta lebih ekonomis.

Microcarrier Berbahan Biokeramik

Barrias dkk [2004] melakukan penelitian menggunakan sel pembentukan tulang *differentiated osteoblast* dan sel sum - sum *undifferentiated osteoblast* manusia yang ditanamkan di *microcarrier* berbahan *hydroxyapatite*. Hasilnya sel dapat berkembang dan memproduksi matriks ekstraselular. *Hydroxyapatite* dan *calcium titanium phosphate* [Barrias dkk, 2005] telah digunakan sebelumnya sebagai *cell delivery system* dalam perbaikan tulang karena sifat osteokonduktif alaminya dan kemampuannya untuk meningkatkan fungsi sel dan ikatan tulang [Sautier dkk, 1992 ; Botchwey dkk, 2001].

Eckert dkk [2000] memproduksi *microcarrier* alumina berbentuk *hollow-sphere* untuk aplikasi *cell carrier*. Alumina berpori dibuat dengan mensuspensikan alumina di dalam air, homogenisasi, dan meneteskan *slurry* yang terbentuk ke piringan yang telah dipanaskan (*Hot Plate Moulding*, HPM). Hasilnya didapatkan *carrier* dengan diameter rata – rata 4,9 mm dan porositas 58 – 66 %. *Cell carrier* kemudian diimplan ke dinding abdominal Zur (tikus SIV) yang telah diberi sayatan hingga 50 minggu. Hasilnya sudah tidak ditemukan peradangan dan jaringan ikat longgar ditemukan tumbuh disekitar rongga *cell carrier*.

Sopyan dkk [2012] melakukan membuat *macroporous carrier alumina – hydroxyapatite* dengan metode pembentukan pori *protein foaming - starch consolidation*. Protein dan *starch* ditambahkan ke dalam keramik dan dicetak ke dalam *molds* kemudian di keringkan di dalam *oven* dan dimasukkan ke dalam *furnace* untuk proses *sintering*. Hasilnya didapatkan porous alumina dengan volume penyusutan 26 - 77%, porositas 46 – 52% dan kuat tekan 0,1 – 6,4 MPa. Uji kompatibilitas *microcarrier* untuk pertumbuhan sel dilakukan di dalam bioreaktor berpengaduk menggunakan *vero cell*. Pengujian dilakukan selama 8 sampai 120 jam. Laju pertumbuhan sel pada *microcarrier alumina-hydroxyapatite* 0,015 h⁻¹ dan meningkat menjadi 0,019 h⁻¹ untuk rasio penambahan HA ke alumina 0.3 w/w dan menurun menjadi 0,017 h⁻¹ pada rasio HA – alumina 1.0 w/w.

Namun densitas dari biokeramik yang relatif tinggi menyebabkan tabrakan antar *bead* dengan dinding reaktor dalam kultur suspensi 3D, sehingga *hydroxyapatite microcarrier* hanya bisa digunakan pada tahap kultur statis [Doctor, 2002; Qiu dkk, 2001]. Masalah ini diselesaikan dengan membentuk *hydroxyapatite carrier* berbentuk *hollow sphere* atau melapisi *microcarrier* sintesis dengan *hydroxyapatite*. *Microcarrier* tersebut memiliki densitas lebih tinggi sedikit atau hampir sama dengan medium, sehingga dapat mencegah tabrakan dengan dinding reaktor. Beberapa aplikasi *microcarrier* dari berbagai jenis material yang telah dilakukan dapat dilihat di tabel 2.

Microcarrier komersial yang tersedia saat ini sebagian besar berbahan sintesis (ie : dextran,

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 x 10 ⁵ /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 x 10 ⁶ 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 x 10 ⁶ 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 hormon, antibodi, dan bioreaktor. Penggunaan <i>microcarrier</i> berbahan biokeramik selama 4 hari. Kemudian sel diinfeksi dengan PV Rabies virus dan dikulturisasi selama 3 hari. Jumlah <i>titre</i> virus yang dihasilkan adalah 104.FFD50/0.05 ml	Frazatti-Gallina dkk [2004]
6	Biokeramik (Hydroxapatite)	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
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU

<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].

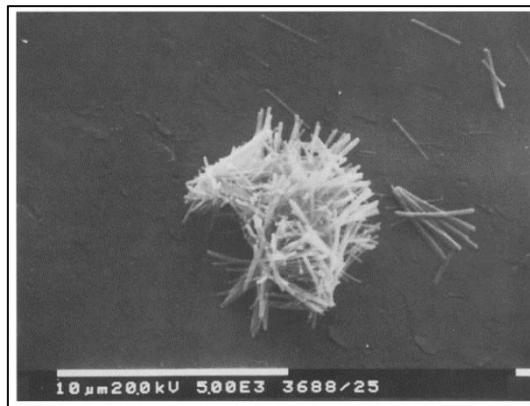
Tissue Regeneration

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.

