

# PREPARASI DAN KARAKTERISASI *CORE/SHELL* MIKROKAPSUL POLISTIREN SEBAGAI BIOMATERIAL IMOBILISASI SEL MIKROBA

Etik Mardiyati

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika (PTFM) - BPPT  
Jl. M.H. Thamrin 8 Jakarta, 10340

## ABSTRAK

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI *CORE/SHELL* MIKROKAPSUL POLISTIREN SEBAGAI BIOMATERIAL IMOBILISASI SEL MIKROBA.** Telah dikembangkan sebuah metode berbasis teknik *emulsification-solvent evaporation* untuk pembuatan mikrokapsul polistiren yang berstruktur *core/shell*. Metode ini memanfaatkan fenomena separasi fasa polimer di dalam campuran pelarut organik pada *droplet* emulsi minyak/air. Pada penelitian ini diteliti pengaruh kondisi preparasi mikrokapsul seperti konsentrasi pelarut dan suhu penguapan pelarut terhadap struktur mikrokapsul. Struktur mikrokapsul diamati dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*. Dari hasil penelitian diketahui bahwa pembentukan lubang inti (*core*) dan pori-pori dinding sangat dipengaruhi oleh konsentrasi isooktan dalam fasa minyak. Lebih lanjut, diameter *core* dan struktur dinding mikrokapsul dipengaruhi oleh suhu penguapan pelarut. Pada kondisi preparasi yang optimal, telah berhasil didapatkan mikrokapsul dengan *core* yang besar dan dinding yang berpori banyak, yang sesuai untuk diaplikasikan sebagai matriks imobilisasi sel mikroba.

**Kata kunci :** Biomaterial, mikrokapsul polistiren, struktur *core/shell*, imobilisasi, sel mikroba

## ABSTRACT

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF *CORE/SHELL* POLYSTYRENE MICROCAPSULE FOR BIOMATERIAL OF MICROBIAL CELL IMMOBILIZATION.** A new method for preparing polystyrene microcapsule with a *core/shell* structure was successfully developed using *emulsification-solvent evaporation* technique. The method was based on phase separation of polymer within a mixed organic solvent system in an oil-in-water (*o/w*) emulsion droplet. The effects of microcapsule preparation conditions such as solvent concentrations and solvent evaporation temperatures on microcapsule morphology were investigated. The morphology of microcapsule was observed using a *Scanning Electron Microscope (SEM)*. From the results, it was found that the formation of hollow core and wall pores was significantly affected by the isooctane concentration in the oil phase. Moreover, the diameter of core and the structure of capsule wall were influenced by the temperature of solvent evaporation. At the optimal condition, microcapsule with single large core and highly porous wall, which is appropriate for microbial cell immobilization matrix, was successfully prepared.

**Key words :** biomaterial, polystyrene microcapsule, *core/shell* structure, immobilization, microbial cell

## PENDAHULUAN

Dewasa ini, teknologi imobilisasi telah mengambil peran yang sangat penting pada proses biokimia di dalam bioreaktor, dimana sel mikroba imobil (*immobilized microbial cells*) banyak diaplikasikan di berbagai bioproses seperti pada produksi alkohol, asam amino, antibiotik, atau pada degradasi polutan limbah cair [1-3]. Penggunaan sel imobil memberikan berbagai keunggulan dibandingkan dengan sel bebas (*free cell*), antara lain terlindunginya sel dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (suhu, pH, pelarut organik, racun), proses separasi menjadi lebih mudah dan cepat, tingkat stabilitas operasional lebih tinggi, serta memungkinkan dilaksanakannya proses secara kontinu dengan tingkat

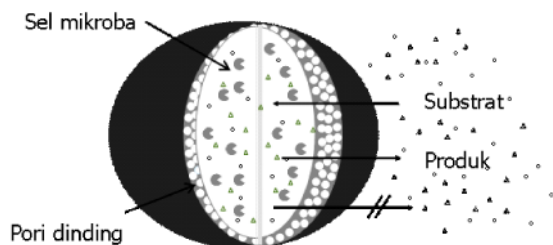
densitas sel dan kecepatan dilusi yang tinggi, yang pada akhirnya dapat meningkatkan produktifitas bioreaktor dan kontinuitas produksi [4].

Teknik imobilisasi sel mikroba yang ada yaitu *penempelan (attachment)*, *penggumpalan (aggregation)*, *penangkapan (entrapment)* dan *penyalutan/enkapsulasi (encapsulation)*. Diantara teknik ini, enkapsulasi sel mikroba di dalam partikel berukuran mikro (disebut dengan mikrokapsul) dipandang sebagai teknik yang sangat prospektif karena memiliki beberapa keunggulan, seperti permukaan matriks yang lebih luas untuk area kontak, daya ikat sel yang lebih besar, serta tersedianya lingkungan kecil (*microenvironment*) bagi

sel di dalam mikrokapsul sehingga terlindungi dari denaturasi atau kehilangan viabilitas akibat kontak dengan pelarut [5].

Jenis mikrokapsul yang sekarang ini umum digunakan sebagai matriks imobilisasi adalah mikrokapsul hidrogel dari bahan polimer alam (seperti alginat, karaginan dan agar) atau polimer sintesis (seperti poliakriamid dan poliuretan) dikarenakan prosedur preparasinya yang mudah dan cepat [5]. Namun demikian, kelemahan utama dari mikrokapsul jenis hidrogel adalah stabilitas kimia dan mekaniknya yang rendah serta mudah mengalami pembengkakan (*swelling*) di dalam media reaksi, yang mengakibatkan terjadinya kebocoran atau lepasnya sel ke dalam media reaksi. Oleh karenanya, sel imobil dalam mikrokapsul hidrogel ini sulit untuk diaplikasikan pada reaksi kontinyu jangka lama [6]. Berbagai upaya untuk mendapatkan matriks imobilisasi yang stabil dan berumur panjang, antara lain dengan peningkatan kekuatan mekanik mikrokapsul hidrogel melalui penambahan zat penstabil gel (seperti ion kalsium) pada media reaksi [7], *post treatment* dengan *crosslinker* [8], pelapisan ganda [9] atau dengan pengembangan mikrokapsul solid dari polimer buatan [10].

Berlatar belakang hal tersebut di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan matriks baru dari mikrokapsul solid yang memiliki tingkat stabilitas, daya ikat sel dan kecepatan difusi zat yang tinggi, sehingga prospektif untuk digunakan sebagai matriks imobilisasi sel mikroba dalam pemakaiannya pada reaktor sistem berulang dan kontinyu. Untuk bahan dinding mikrokapsul dipilih polistiren, dikarenakan polimer jenis ini memiliki stabilitas kimia dan mekanik yang tinggi, proses pembentukan mikrokapsul mudah dan memiliki kemampuan untuk membentuk dinding yang tipis [11]. Pengembangan mikrokapsul polistiren matriks untuk enkapsulasi enzim *placental alkaline phosphatase* [12], zat pencegah korosi [13], segmen kristal cair [14] dan sebagainya telah dilakukan oleh beberapa peneliti, namun pengembangannya sebagai matriks sel mikroba masih jarang dilakukan.

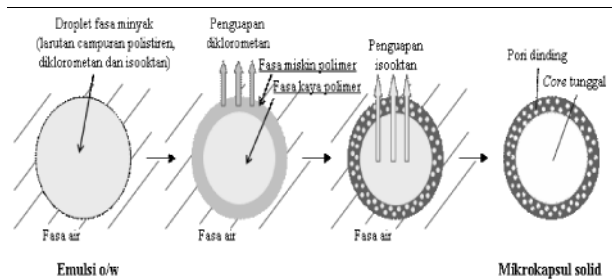


Gambar 1. Desain model mikrokapsul polistiren untuk matriks imobilisasi sel mikroba

Dalam pengembangan mikrokapsul polistiren dengan karakteristik yang tepat sebagai matriks imobilisasi sel, ada dua faktor yang harus dipenuhi yaitu

memiliki tingkat efisiensi enkapsulasi yang tinggi sehingga mampu menyalut sel dalam jumlah banyak dan memiliki dinding mikrokapsul memiliki tingkat kecepatan difusi yang tinggi sehingga proses reaksi kimia tidak terhalangi. Oleh karenanya, mikrokapsul polistiren yang dikembangkan pada penelitian ini didisain untuk memiliki lubang inti (*core*) tunggal yang besar dan dinding kapsul yang berpori-pori banyak (Gambar 1).

Guna mendapatkan mikrokapsul dengan karakter khusus tersebut, pada penelitian ini dikembangkan suatu metode baru berbasis teknik *emulsification solvent evaporation*, dengan memanfaatkan fenomena pemisahan fasa polistiren di dalam suatu campuran pelarut organik (yakni diklorometan dan isooktan) pada sistem emulsi *oil/water (o/w)*. Metode baru ini direkayasa menggunakan fenomena fasa separasi pada pembuatan mikrokapsul *polymethylmethacrylate*. Secara ilustrasi prinsip dari metode baru ini ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Ilustrasi prinsip preparasi mikrokapsul polistiren

Fasa minyak (*o phase*) yang terdiri atas polistiren, diklorometan sebagai pelarut yang kaya polimer (*polymer-rich solvent*) dan isooktan sebagai pelarut yang miskin polimer (*polymer-poor solvent*) didispersikan pada fasa air (*w phase*) sehingga terbentuk emulsi *o/w*. Emulsi *o/w* kemudian dievaporasi dengan mengontrol suhu penguapan secara bertahap agar terjadi separasi fasa di dalam *droplet* emulsi, sehingga fasa yang kaya akan polistiren (*polystyrene-rich phase*) berada di bagian luar *droplet* dan fasa yang miskin akan polistiren (*polystyrene-poor phase*) berada di bagian dalam *droplet*.

Selanjutnya dilakukan penguapan diklorometan pada suhu rendah (titik didih diklorometan 40 °C) sehingga mengakibatkan emulsi mengalami koagulasi sehingga terbentuk mikrokapsul. Kemudian dilakukan penguapan isooktan pada suhu tinggi (titik didih isooktan 99 °C) sehingga mengakibatkan terbentuknya *core* di tengah dan pori-pori mikro di dinding.

Pada makalah ini akan diuraikan tentang investigasi dasar pembuatan mikrokapsul dengan struktur *core/shell* dan dinding berpori, yang sesuai untuk diaplikasikan sebagai biomaterial pada imobilisasi sel mikroba. Pengaruh kondisi preparasi mikrokapsul seperti konsentrasi pelarut dan suhu penguapan pelarut terhadap struktur mikrokapsul diteliti secara detail.

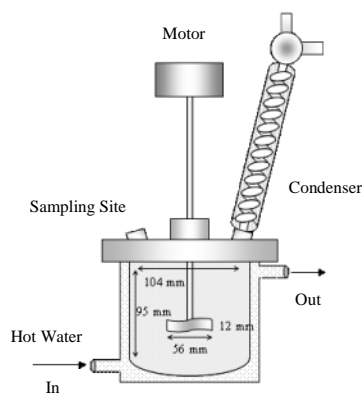
## METODE PERCOBAAN

### Bahan

Bahan pembentuk dinding mikrokapsul adalah polistiren ((n=1000-1400, Nacalai Tesque, Inc.). Diklorometan (bp=40°C, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) digunakan sebagai pelarut kuat polimer (*polymer good solvent*), dan isooktan (bp=99°C, Wako Chemical Industries, Ltd.) sebagai pelarut lemah polimer (*polymer poor solvent*). Penstabil emulsi yang digunakan adalah sorbitan monooleat (Span 80, Nacalai Tesque, Inc.), polivinil alkohol (PVA, n=500, hidrolisis sempurna, Wako Chemical Industries, Ltd.) dan mikropartikel kalsium trifosfat (TCP-10U, Taihei Chemical Co., Ltd.).

### Alat

Alat yang digunakan untuk pembuatan mikrokapsul adalah *vessel* gelas berjaket dengan ukuran 1000 mL yang dilengkapi dengan pengaduk mekanik (Gambar 3).



Gambar 3. Bagan alat untuk pembuatan mikrokapsul polistiren

### Pembuatan Mikrokapsul Polistiren

*Core/Shell* mikrokapsul polistiren dibuat menggunakan metode emulsifikasi-penguapan pelarut (*emulsification-solvent evaporation method*). Sebanyak 60 g larutan diklorometan yang mengandung polistiren 10 w/w%, Span 80 3 w/w% dan isooktan 0 w/w% (fasa minyak) sampai dengan 7 w/w% (fasa minyak) didispersikan pada 500 g larutan air yang mengandung PVA 1 w/w% dan TCP-10U 50 w/w% (fasa air), dan diaduk menggunakan pengaduk mekanik pada kecepatan 200 rpm selama 5 menit sehingga membentuk emulsi *o/w*. Penguapan pelarut dilakukan dengan mengalirkan air ke dalam jaket *vessel* pada suhu rendah (30 °C dan 35 °C) selama 12 jam untuk menguapkan diklorometan, kemudian dilanjutkan pada suhu tinggi (45 °C, 50 °C dan 55 °C) selama 18 jam untuk menguapkan isooktan. Mikrokapsul yang terbentuk dicuci dengan 500 mL larutan HCl 1 M untuk membersihkan TCP-10, kemudian disaring dan dikeringkan pada suhu kamar selama semalam.

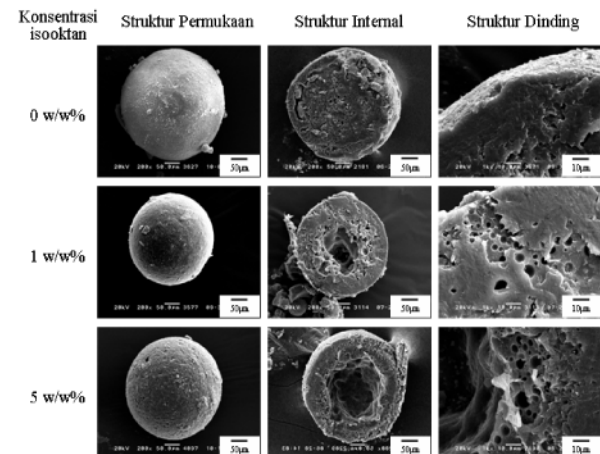
### Karakterisasi Mikrokapsul

Struktur permukaan dan internal dari mikrokapsul diamati dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscope (SEM)*, Topcon Model SM-300, Topcon Co., Ltd.). Struktur internal diperoleh dengan cara membelah dua mikrokapsul menggunakan pisau diaman. Mikrokapsul yang akan diamati ditempelkan pada *stage* sampel menggunakan *double tape* yang bersifat konduktif, lalu dilapisi emas dengan ketebalan sekitar 300 Å menggunakan alat *Ion Coater IB-2* (Eiko Engineering Co., Ltd.) pada tekanan rendah. Analisis *SEM* dilakukan pada 20 kV dan berbagai variasi magnifikasi.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Pengaruh Konsentrasi Isooktan Terhadap Struktur Mikrokapsul

Pada metode yang dirancang untuk pembuatan mikrokapsul polistiren, pelarut isooktan diharapkan akan memainkan peranan yang besar pada pembentukan lubang inti (*core*) dan pori-pori dinding. Oleh karenanya, pengaruh konsentrasi isooktan terhadap struktur mikrokapsul diteliti. Konsentrasi isooktan divariasi dari 0 w/w% hingga 7 w/w%, sedangkan suhu penguapan adalah 35 °C untuk mengeliminasi diklorometan dan kemudian 50 °C untuk mengeliminasi isooktan.



Gambar 4. Foto SEM mikrokapsul polistiren dengan berbagai konsentrasi isooktan

Foto *SEM* struktur eksternal dan internal mikrokapsul polistiren yang dihasilkan dengan berbagai variasi konsentrasi isooktan ditunjukkan pada Gambar 4. Mikrokapsul yang dibuat dengan konsentrasi isooktan 0 % hingga 5 % memiliki bentuk yang *sferis* dengan ukuran partikel berkisar 25 µm hingga 400 µm. Sementara, pada konsentrasi isooktan 6 %, mikrokapsul yang dihasilkan mengalami agregasi sehingga membentuk gumpalan (Gambar SEM tidak diambil), sedang pada konsentrasi isooktan 7 % mikrokapsul tidak

dapat terbentuk akibat terjadinya agregasi emulsi selama proses penguapan.

Pada mikrokapsul yang dibuat dengan tanpa penggunaan isooktan, permukaannya berbentuk relatif halus dan tidak nampak adanya pori-pori pada dinding. Foto *cross-section* membuktikan bahwa tidak terbentuk *core* di dalam mikrokapsul dan struktur internalnya sedikit kasar, yang diduga terbentuk selama proses evaporasi pelarut. Pada mikrokapsul dengan konsentrasi isooktan 1 %, permukaan nampak sedikit kasar, dan pada struktur internal terlihat *core* tunggal berdiameter sekitar 50  $\mu\text{m}$ . Selain itu, beberapa pori pada dinding dengan ukuran 3  $\mu\text{m}$  hingga 5  $\mu\text{m}$  terlihat pada dinding dalamnya. Selanjutnya, pada mikrokapsul dengan konsentrasi isooktan 5 % terlihat adanya *core* tunggal yang lebih besar dan pori-pori dinding yang lebih banyak.

Dari hasil ini telah jelas diketahui bahwa konsentrasi isooktan sangat berpengaruh pada pembentukan *core* dan pori dinding. Penambahan *polymer poor solvent* pada fasa organik akan menyebabkan terjadinya separasi fasa di dalam *droplet* emulsi *o/w* sehingga mengakibatkan terbentuknya *core* dan pori dinding. Pada penelitian ini konsentrasi optimal isooktan yang didapat adalah 5 %.

## Pengaruh Penguapan Pelarut Terhadap Struktur Mikrokapsul

Karena dalam metode yang dirancang pada penelitian ini menggunakan teknik evaporasi untuk mengeliminasi pelarut organik, maka diduga suhu penguapan akan sangat mempengaruhi struktur mikrokapsul. Untuk mengetahui pengaruhnya, suhu penguapan pelarut divariasikan menggunakan 6 jenis kombinasi, dengan suhu penguapan diklorometan pada 30 °C dan 35 °C, dan suhu penguapan isooktan pada 45 °C, 50 °C dan 55 °C. Konsentrasi isooktan yang digunakan adalah 5 w/w%.

Gambar 5 menunjukkan foto *SEM* struktur internal mikrokapsul yang dibuat pada berbagai variasi suhu penguapan pelarut. Mikrokapsul yang dibuat pada

suhu penguapan diklorometan 35 °C memiliki *core* yang lebih besar dibandingkan dengan dibuat pada suhu 30 °C. Kenaikan lebar *core* juga terjadi dengan semakin tingginya suhu penguapan isooktan, meski pada kondisi penguapan diklorometan 30 °C, perubahan ini tidak terlalu signifikan.

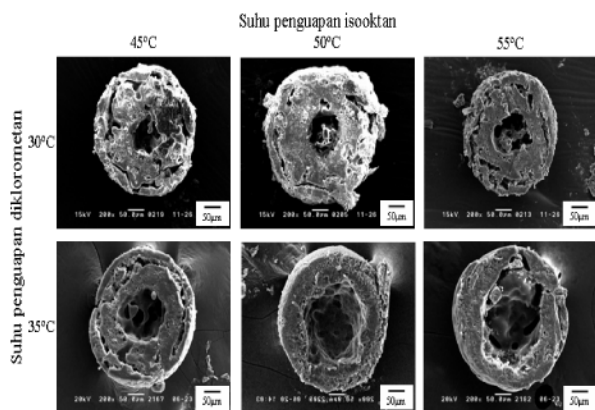
Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa ukuran *core* semakin besar dengan semakin tingginya suhu penguapan. Dari hal ini dapat diasumsikan bahwa evaporasi pada suhu yang lebih tinggi efektif mentransfer fasa kaya polimer ke arah permukaan *droplet* emulsi, sehingga terbentuk *core* tunggal yang lebih besar. Lebih lanjut terlihat bahwa mikrokapsul yang dibuat pada kombinasi suhu 35 °C dan 50 °C menunjukkan struktur dinding yang *compact*, sementara meskipun mikrokapsul pada kombinasi suhu 35 °C dan 55 °C memiliki *core* yang lebih besar namun terbentuk pecahan pada dindingnya. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa ukuran *core* mikrokapsul dapat dengan mudah dikontrol melalui suhu penguapan pelarut. Pada penelitian ini konsentrasi optimal suhu penguapan yang didapat adalah 35 °C untuk penguapan diklorometan dan 55 °C untuk penguapan isooktan.

## KESIMPULAN

Mikrokapsul polistiren dengan karakteristik khusus yang tepat sebagai biomaterial imobilisasi sel mikroba telah berhasil dibuat dengan menggunakan metode baru berbasis teknik *o/w emulsification solvent evaporation*. Analisis morfologi menggunakan *SEM* menunjukkan bahwa mikrokapsul yang diperoleh memiliki *core* tunggal yang besar dan pori dinding yang banyak, sehingga diharapkan memiliki kemampuan mengikat sel dalam jumlah tinggi dan dapat memperkecil terjadinya limitasi laju difusi zat. Penelitian selanjutnya tentang imobilisasi sel mikroba ke dalam mikrokapsul polistiren dan pemanfaatannya dalam bioproses perlu dilakukan untuk membuktikan potensi mikrokapsul ini sebagai biomaterial prospektif pada imobilisasi sel.

## DAFTARACUAN

- [1]. TANAKA, A. TOSA, T. KOBAYASHI, *Industrial Application of Immobilized Biocatalysts*, Dekker, New York, (1993)
- [2]. T. GU and M.-J. SYU, *Biotechnol. Prog.*, **20** (2004) 1460
- [3]. A. A. WANG, A. MULCHANDANI and W. CHEN, *Biotechnol. Prog.*, **17** (2001) 407
- [4]. Y. KOURKOUTAS, A. BEKATOROU, I.M. BANAT, R. MARCHANT, A. A. KOUTINAS, *Food Microbiol.*, **21** (2004) 377
- [5]. J. K. PARK and H. N. CHANG, *Bioetchnol. Advances*, **18** (2000) 303
- [6]. V. JIRKU, *Process Biochem.*, **34** (1999) 193.
- [7]. ARASARATNAM, *Process Biochem*, **29** (1994) 253



Gambar 5. Foto *SEM* mikrokapsul polistiren dengan berbagai variasi suhu penguapan.

- [8]. T. YOSHIOKA, R. HIRANO, T. SHIOYA and M. KAKO, *Biotechnol. Bioeng.*, **35** (1990) 66
- [9]. E. TAQIEDDIN and M. AMIJI, *Biomaterials*, **25** (2004) 1937
- [10]. G. J. WANG, L. Y. CHU, W. M. CHEN and M. Y. ZHOU, *J. Membrane Sci.*, **252** (2005) 279
- [11]. A. HALDER and B.SA, *AAPS PharmSciTech.*, **7** (2006)E1
- [12]. H. TAKENAKA, Y. KAWASHIMA, Y. CHIKAMATSU and A. YUTAKA, *Chem. Pharm. Bulletin*, **30** (1982) 695.
- [13]. A. MAC, D. NEGI and D. FRIEND, *J Microencapsulation*, **6** (1989) 361.
- [14]. T. MATSUI, M. YOSHIDA and Y. HATATE, *Chem. Eng. Communications*, **194** (2007) 248
- [15]. A. LOXLEY and B. VINCENT, *J Colloid Interface Sci.*, **208** (1998) 49.