

**CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER  
FAKULTAS FARMASI UGM**

Dokumen nomor : CCRC-03-002-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-002-00	Tanggal : 26 Februari 2009

<b>URAIAN</b>	<b>DIBUAT OLEH</b>	<b>DIPERIKSA OLEH</b>	<b>DIPERIKSA OLEH</b>	<b>DISETUJU OLEH</b>
Jabatan	Staf CCRC	Staf CCRC	Supervisor CCRC	Pimpinan CCRC
Paraf				
Nama	Adam Hermawan	Sarmoko	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
Tanggal	26 Februari 2010	26 April 2010		

**PROSEDUR TETAP**

**PEMBUATAN MEDIA**

DAFTAR ISI

	HALAMAN
DAFTAR ISI	1
A. RIWAYAT REVISI DOKUMEN	2
B. TUJUAN	2
C. PENDAHULUAN	2
D. OPERASIONAL	3

**CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER  
FAKULTAS FARMASI UGM**

Dokumen nomor : CCRC-03-002-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-002-00	Tanggal : 26 Februari 2009

**A. RIWAYAT REVISI DOKUMEN**

No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
-	-	Endah P Septi Staff CCRC		Riris Istighfari J Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
<b>Isi</b>	Menggunakan format lama Belum ada penomoran dokumen Belum ada prosedur pembuatan media cair dari media padat				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-02-002-00	26 Februari 2009	Adam Hermawan Staff CCRC	Aditya Fitriyasi Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
<b>Isi</b>	Menggunakan format baru Sudah ada penomoran dokumen Menyebutkan prosedur pembuatan media cair dari media padat				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-03-002-01	26 Februari 2010	Adam Hermawan Staff CCRC	Sarmoko Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
<b>Isi</b>	Menggunakan penomoran baru, penambahan fungizone jika diperlukan				

**B. TUJUAN**

Mengatur standar kerja pembuatan media di laboratorium *in vitro* CCRC.

**C. PENDAHULUAN**

Untuk dapat tumbuh dan berkembang, sel memerlukan media yang sesuai. Kebanyakan media pertumbuhan yang digunakan merupakan media kimiawi, tetapi ditambahkan dengan serum 5-20% yang mengandung faktor pertumbuhan (stimulan) yang penting untuk pembelahan sel. Media mengandung larutan garam isotonis, asam amino, vitamin, dan glukosa, contohnya Eagle's Minimal Essential Medium (MEM). Selain mengandung serum, media juga diperkaya dengan antibiotik (biasanya penicillin dan streptomisin) untuk membantu mencegah kontaminasi bakteri. Umumnya pertumbuhan sel yang baik terjadi pada pH 7,0-7,4. Media juga ditambah fenol red sebagai indikator pH yang akan berwarna merah pada pH 7,4 orange pH 7,0 dan kuning pH 6,5 kebiru-biruan pH 7,6 dan ungu pH 7,8.

Media tumbuh juga membutuhkan penyangga karena terjadinya dua kondisi, yaitu penggunaan flask terbuka menyebabkan masuknya O<sub>2</sub> dan meningkatnya pH, dan konsentrasi sel yang tinggi menyebabkan diproduksinya CO<sub>2</sub> dan asam laktat menyebabkan turunnya pH. Kedua kondisi ini dihadapi dengan memberikan buffer ke dalam media dan ke dalam inkubator dialirkan CO<sub>2</sub> dari luar. Buffer yang biasanya digunakan adalah sistem bikarbonat-CO<sub>2</sub>, sehingga ke dalam media

**CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER  
FAKULTAS FARMASI UGM**

Dokumen nomor : CCRC-03-002-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-002-00	Tanggal : 26 Februari 2009

pertumbuhan ditambahkan larutan bikarbonat. Reagen yang digunakan di dalam media dan kultur sel harus disterilisasi dengan autoklaf (uap panas), *hot-air oven* (panas kering), *membrane filtration*, atau di-irradiasi untuk peralatan plastik.

**D. OPERASIONAL**

**1. PEMBUATAN MEDIA CAIR**

**1.1. Alat**

- Beker glass volume 1000 ml
- Magnetic stirer*
- pH-meter
- Filter 0,2 mikron
- Botol duran 1000 ml

**1.2. Bahan**

- Media padat
- Aquabidest 1000 ml
- NaHCO<sub>3</sub>
- HCl/NaOH

**1.3. Prosedur Kerja**

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Siapkan media padat yang akan digunakan	Periksa tanggal kadaluarsa yang tertera pada kemasannya
2.	Siapkan 950 ml akuabides steril dalam gelas beker 1000 ml dalam LAF.	
3.	Tuang media bubuk ke dalam akuabides steril ke dalam gelas beker, aduk hingga rata	Pelarutan media bubuk dilakukan pada suhu kamar di dalam LAF.
4.	Bilas bagian dalam pembungkus media bubuk dengan akuabides, tuang cairannya ke dalam gelas beker di atas	Lakukan dengan hati-hati
5.	Tambahkan 2,2 g NaHCO <sub>3</sub> untuk setiap liter media yang dibuat, aduk rata	Lakukan dengan hati-hati
6.	Tambahkan akuabides steril hingga volume 1000 ml	Lakukan dengan hati-hati
7.	Aduk dengan magnetik stirer hingga semua media padat dan NaHCO <sub>3</sub> dapat larut.	Lakukan dengan hati-hati
8.	Lakukan <i>adjust</i> pH (seharga 0,2-0,3 dibawah pH yang diinginkan) dengan menambahkan NaOH 1 N atau HCl 1 N	Lakukan dengan hati-hati
9.	Lakukan filtrasi media dengan filter 0,2 mikron, tampung ke dalam botol Duran 1000 ml	Lakukan dengan hati-hati di dalam LAF (kondisi aseptis).
10.	Beri penandaan dan simpan media di kulkas dengan suhu 4 °C.	Pastikan penandaan pada botol yang meliputi tanggal, nama media dan penandaan CCRC.

**CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER  
FAKULTAS FARMASI UGM**

Dokumen nomor : CCRC-03-002-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-002-00	Tanggal : 26 Februari 2009

**2. Pembuatan Media Kultur Lengkap**

Media kultur lengkap adalah media yang mengandung faktor pertumbuhan seperti *Fetal Bovine Serume* (FBS) dan juga Penisilin-Streptomisin sebagai antibiotik. Pembuatan media kultur lengkap dilakukan di LAF pada kondisi aseptis, sehingga sebelum dan sesudah mengambil bahan yang sudah steril, harus selalu dilakukan pemanasan peralatan di dekat nyala api spiritus.

**2.1 Alat**

- Mikropipet 1000 µl
- Botol duran 100 ml

**2.2 Bahan**

Bahan	Jumlah (%)	Jumlah (per 100 ml)
Penisilin-streptomisin	1 %	1 ml
FBS (Fetal bovine serum) quillified	10 %	10 ml
Media (RPMI/DMEM)	Ad 100 %	ad 100 ml

\* Jika diperlukan tambahkan fungizone 500 µl sebagai anti-yeast

**2.3 Prosedur Kerja**

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Cairkan FBS dan Penisilin-streptomisin pada suhu kamar terlebih dahulu sebelum digunakan.	FBS dan Penisilin-streptomisin disimpan dalam freezer pada suhu -20 °C, disimpan dalam <i>conical</i> sebagai alikuot. FBS dari stok di alikuot dalam <i>conical</i> tiap 10 ml dalam jumlah 5-10 <i>conical</i>
2.	Siapkan botol Duran volume 100 ml.	
3.	Ambil 10 ml FBS, tuang ke dalam botol duran	Jaga sterilitas dengan memanaskan ujung pipet dan mulut botol pada nyala api
4.	Ambil 1 ml Penisilin-streptomisin, tuang ke dalam botol Duran	Jaga sterilitas dengan memanaskan ujung pipet dan mulut botol pada nyala api
5.	Tambahkan media cair sampai 100 ml (sekitar leher botol).	Jaga sterilitas dengan memanaskan mulut botol dan tutup pada nyala api. Tutup dengan kencang sebelum dikeluarkan dari LAF
6.	Beri penandaan pada botol berupa nama media, tanggal pembuatan media kultur lengkap serta penandaan CCRC	Lakukan pengecekan ulang dan pastikan penandaan sudah benar

**CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER  
FAKULTAS FARMASI UGM**

Dokumen nomor : CCRC-03-002-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-002-00	Tanggal : 26 Februari 2009

**3. Sanitasi**

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Lakukan sanitasi peralatan sesuai dengan kondisi tiap-tiap peralatan	SOP Persiapan kerja Lab In Vitro

*Jika ada sesuatu dalam SOP ini tidak bisa dilakukan atau tidak sesuai dengan kenyataan dilapangan, segera laporkan kepada Staff/Supervisor CCRC*