

Dokumen nomor : CCRC-03-006-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-008-00	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	Sendy Junedi	Sarmoko	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
Tanggal	26 Februari 2010	26 April 2010		

**PROSEDUR TETAP**

**PERHITUNGAN SEL**

DAFTAR ISI

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

Dokumen nomor : CCRC-03-006-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-008-00	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				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-02-008-00	26 Februari 2009	Sendy Junedi Staff CCRC	Adam Hermawan Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
<b>Isi</b>	Menggunakan format baru Sudah ada penomoran dokumen				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-03-006-01	26 Februari 2010	Sendy Junedi Staff CCRC	Sarmoko Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
<b>Isi</b>	Menggunakan penomoran baru				

### B. TUJUAN

Memberikan panduan secara bertahap dan detail mengenai cara perhitungan sel.

### C. PENDAHULUAN

Sel yang akan digunakan untuk uji dengan *out put* data melibatkan jumlah sel (misal uji sitotoksik, *flowcytometri* dan *doubling time*) harus memiliki jumlah tertentu dan antar kelompok perlakuan harus homogen. Perhitungan sel tersebut dapat dilakukan dengan hemositometer dibawah mikroskop. Syarat penghitungan sel dengan metode hemositometri adalah sel harus "berdiri" sendiri-sendiri/ tidak menggerombol.

### D. OPERASIONAL

#### 1. Alat

Mikropipet 20 µl  
Conical tube  
Mikroskop *inverted*/cahaya  
Hemositometer  
Counter

#### 2. Bahan

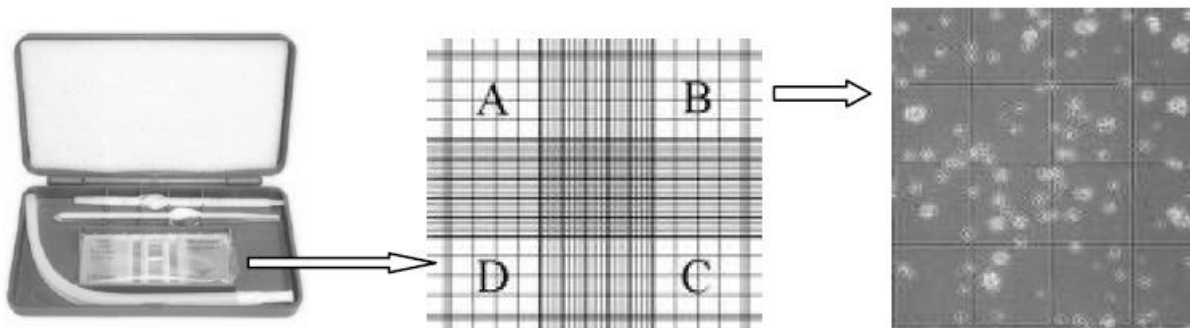
MK (DMEM/RPMI)

Dokumen nomor : CCRC-03-006-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-008-00	Tanggal : 26 Februari 2009

### 3. Perhitungan Sel

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Lakukan panen sel sesuai <b>Protokol Panen Sel</b>	
2.	Resuspensi sel di conical tube dari hasil panen sel	
3.	Ambil 10 µl panen sel dan pipetkan ke hemasitometer.	
4.	Hitung sel di bawah mikroskop ( <i>inverted</i> atau mikroskop cahaya) dengan <i>counter</i> . Lihat prosedur penghitungan sel di bawah.	
5.	Untuk sel yang akan ditanam (untuk perlakuan) lakukan transfer sejumlah sel yang diperlukan ke dalam <i>conical</i> yang lain dan tambahkan MK sesuai dengan konsentrasi yang dikehendaki.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lihat <b>Cara Perhitungan</b> sel di bawah ini.</li> <li>• Plate sebelumnya sudah di beri penandaan terlebih dahulu: tanggal, nama sel, CCRC</li> </ul>
6.	Sisa suspensi sel pada <i>conical tube</i> (no 1) dilakukan <i>cryopreservation</i> , atau dilakukan sub kultur.	
7.	Setiap selesai melakukan pekerjaan, lakukan sanitasi seperti pada Protokol Persiapan Kerja In Vitro di Laboratorium.	

### 5. Cara Perhitungan



Hemositometer terdiri dari 4 kamar hitung. Setiap kamar hitung terdiri dari 16 kotak.

1. Hitung sel pada 4 kamar hemositometer. Sel yang gelap (mati) dan sel yang berada dibatas luar di sebelah atas dan di sebelah kanan tidak ikut dihitung. Sel di batas kiri dan batas bawah ikut dihitung.
2. Hitung jumlah sel per mL dengan rumus dibawah.

Dokumen nomor : CCRC-03-006-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-008-00	Tanggal : 26 Februari 2009

$$\text{Jumlah sel terhitung /mL} = \frac{\sum \text{ sel kamar A} + \sum \text{ sel kamar B} + \sum \text{ sel kamar C} + \sum \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4$$

- Hitung jumlah total sel yang diperlukan.  
Misal untuk menanam sel pada tiap sumuran *96-well plate* maka jumlah total sel yang diperlukan adalah  $5 \times 10^3 / \text{sumuran} \times 100 \text{ sumuran}$  (dibuat lebih) =  $5 \times 10^5$

- Hitung volume panen sel yang diperlukan (dalam mL) dengan rumus seperti di bawah ini

$$\text{Volume panen sel yang ditransfer} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel terhitung /mL}}$$

- Ambil volume panen sel transfer ke *conical tube* baru kemudian tambahkan MK sampai total volume yang diperlukan.  
Perhitungan volume yang diperlukan adalah setiap sumuran akan diisi 100 µl MK berisi sel, maka total volume yang diperlukan untuk menanam sel =  $100 \mu\text{l} \times 100 \text{ sumuran} = 10 \text{ mL}$ .

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