

Dokumen nomor : CCRC-03-008-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-004-00	Tanggal : 26 Februari 2009

URAIAN	DIBUAT OLEH	DIPERIKSA OLEH	DIPERIKSA OLEH	DISETUJU OLEH
Jabatan	Staf CCRC	Staf CCRC	Supervisor CCRC	Pimpinan CCRC
Paraf				
Nama	Adam Hermawan	Dyaningtyas Dewi	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
Tanggal	26 Februari 2010	26 April 2010		

PROSEDUR TETAP

MENYIMPAN SEL DI TANGKI NITROGEN CAIR (CRYOPRESERVATION)

DAFTAR ISI

HALAMAN

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

Dokumen nomor : CCRC-03-008-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-004-00	Tanggal : 26 Februari 2009

A. RIWAYAT REVISI DOKUMEN

No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
-		Endah P Septi		Riris Istighfari J	Edy Meiyanto
		Staff CCRC		Supervisor CCRC	Pimpinan CCRC
Isi	Menggunakan format lama Belum ada penomoran dokumen				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-02-004-00	26 Februari 2009	Adam Hermawan	Aditya Fitriasari	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
		Staff CCRC	Staff CCRC	Supervisor CCRC	Pimpinan CCRC
Isi	Menggunakan format baru Sudah ada penomoran dokumen				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-03-008-01	26 Februari 2010	Adam Hermawan	Dyaningtyas Dewi	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
		Staff CCRC	Staff CCRC	Supervisor CCRC	Pimpinan CCRC
Isi	Menggunakan penomoran baru dan penambahan dokumentasi pada Log Book Cryo				

B. TUJUAN

Mengatur standar kerja penyimpanan sel di nitrogen cair (*cryopreservation*) di laboratorium penelitian CCRC.

C. PENDAHULUAN

Sel apabila tidak digunakan dalam penelitian disimpan dalam tangki nitrogen cair untuk waktu penyimpanan yang lama, atau disimpan dalam suhu -80 °C untuk penyimpanan selama 2-3 bulan. Dalam penyimpanan sel perlu diperhatikan beberapa faktor agar sel dapat terjaga dalam kondisi baik selama penyimpanannya.

D. OPERASIONAL

1. Alat

Pipet pasteur atau Mikropipet 1000 µl
Mikropipet 200 µl
Conical tube
Cryo tube
Pulpen marker

2. Bahan

DMSO
MK (DMEM/RPMI)

Dokumen nomor : CCRC-03-008-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-004-00	Tanggal : 26 Februari 2009

3. Cryopreservation

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Siapkan kultur sel yang 80% konfluen untuk di-cryo. Amati kondisi sel dengan mikroskop.	Pastikan sel sudah benar-benar konfluen, jika perlu lakukan pemotretan untuk pendokumentasian
2	Siapkan <i>cryo tube</i> . Masukkan 100 μ l DMSO + 900 μ l MK ke dalam <i>cryo tube</i> .	Lakukan seaseptis mungkin
3.	Lakukan panen sel sesuai Protokol Panen Sel	
4.	Lakukan perhitungan sel sesuai Protokol Perhitungan Sel	
5.	Resuspensi sel dalam <i>conical tube</i> steril.	Lakukan pekerjaan dengan seaseptis mungkin
6.	Tutup <i>conical tube</i> dengan rapat. Sentrifugasi dengan sentrifus untuk <i>conical tube</i> pada 600 g selama 5 menit	Pastikan ada conical penyeimbang
7.	Kembali ke dalam LAF. Semprot <i>conical tube</i> dan tangan dengan alkohol 70 %	Pastikan alkohol sudah merata
8.	Buka <i>conical tube</i> , buang supernatan (lapisan atas) ke dalam pembuangan.	Jangan terlalu dekat dengan pembuangan
9.	Tambahkan 1000 μ l campuran MK-DMSO (9:1) yang telah disiapkan pada point 2, resuspensi kembali sel hingga homogen.	
10.	Transfer suspensi sel dari <i>conical tube</i> ke dalam <i>cryo tube</i> .	Lakukan dengan hati-hati
11.	Beri label pada <i>cryo tube</i> berupa nama sel, tanggal penyimpanan dan nama CCRC .	Penandaan harus jelas menggunakan pulpen marker
12.	Simpan di dalam freezer – 20°C selama 10 menit	Penyimpanan dilakukan selama 10 menit untuk mengkondisikan sel sebelum disimpan pada suhu -80 °C, agar sel tidak mengalami <i>shock temperature</i> .
13.	Simpan di dalam freezer – 80°C	Simpan pada tempat yang benar sesuai jenis sel dan tanggal penyimpanan (FIFO)
14.	Pindah ke dalam tangki nitrogen cair sebelum 1 minggu.	-
15.	Tulis sel dan jumlah cryo dalam LOG BOOK CRYO CCRC	
16	Setiap selesai melakukan pekerjaan, lakukan sanitasi seperti pada Protokol Persiapan Kerja In Vitro di Laboratorium.	

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