

Dokumen nomor : CCRC-03-009-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-009-00	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	Dyaningtyas Dewi	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
Tanggal	26 April 2010	26 April 2010		

**PROSEDUR TETAP**

**PREPARASI SAMPEL**

DAFTAR ISI

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

Dokumen nomor : CCRC-03-009-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-009-00	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 seri konsentrasi				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-02-009-00	26 Februari 2009	Adam Hermawan Staff CCRC	Aditya Fitriasari Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
<b>Isi</b>	Menggunakan format baru Sudah ada penomoran dokumen Sudah dicantumkan cara pembuatan seri konsentrasi				
CCRC-03-009-01	26 April 2010	Sendy Junedi Staff CCRC	Dyaningtyas Dewi 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 preparasi sampel.

### C. PENDAHULUAN

Sampel yang akan diujikan ke dalam kultur sel harus memenuhi persyaratan utama yaitu larut dalam media kultur dan kelarutannya tersebut dibantu oleh *cosolvent* seperti DMSO. Dalam membuat seri konsentrasi sampel untuk pengujian perlu diperhatikan kelipatan konsentrasi agar hasil regresi yang diperoleh yang baik yang sesuai dengan standar.

### D. OPERASIONAL

#### 1. Alat:

Mikropipet 20, 200, 1000  $\mu$ L  
Tabung reaksi kecil atau eppendorf  
Rak tabung kecil  
*Conical tube*  
Vortex  
Timbangan analitik

#### 2. Bahan:

MK (DMEM/RPMI)  
DMSO

Dokumen nomor : CCRC-03-009-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-009-00	Tanggal : 26 Februari 2009

### 3. Preparasi Sampel

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Ikuti protokol Persiapan Kerja In Vitro di Laboratorium	
2	Timbang sampel kurang lebih 5 mg dengan saksama di dalam eppendorf.	-
3.	Uji kelarutan sampel dalam DMSO	Jika digunakan sampel dari ekstrak air, maka tidak perlu bantuan kosolven DMSO
4.	Tambahkan 50 µl DMSO dan coba larutkan dengan bantuan vortex.	-
5.	Jika belum larut, tambahkan 50 µl DMSO lagi dan larutkan kembali dengan bantuan vortex	-
6.	Buat stok baru sampel dalam DMSO setiap kali akan digunakan untuk perlakuan ( <i>recentur paratus</i> ).	Untuk larutan sampel yang stabil, bisa digunakan sampai 1 minggu
7.	Buat seri kadar sampel dengan pengenceran stok dalam DMSO menggunakan MK. Jika terjadi endapan pada pengenceran pertama, jangan dilanjutkan dan pikirkan dahulu solusinya agar sampel dapat larut, kemudian ulangi lagi pembuatan seri kadar dari stok DMSO.	-
8.	Setiap selesai melakukan pekerjaan, lakukan sanitasi seperti pada Protokol Persiapan Kerja In Vitro di Laboratorium.	

### 4. Cara Pembuatan Seri Konsentrasi

1. Buat 7-8 seri konsentrasi sampel antara 1 – 1000 µg/mL (ppm) dengan kelipatan antar konsentrasi

Contoh salah satu cara membuat konsentrasi larutan dengan menghitung angka kelipatan (f)

$$f = n-1\sqrt{(Dt/Dr)}$$

n = banyaknya dosis

Dt = dosis tertinggi

Dr = dosis terendah

Misal: Akan dibuat 6 seri dosis, dengan rentang 1 – 1024 µg/mL, maka

$$f = 6-1\sqrt{(1024/1)} = 4$$

Maka seri konsentrasi uji adalah 1, 4, 16, 64, 256 dan 1000 µg/mL

2. Volume akhir tiap seri konsentrasi untuk perlakuan dibuat minimal 400 µl (100 µl/sumuran, triplo).

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