

Dokumen nomor : CCRC-03-003-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-003-00	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	Sarmoko	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
Tanggal	26 Februari 2010	26 April 2010		

PROSEDUR TETAP

MENUMBUHKAN SEL DARI TANGKI NITROGEN CAIR (*CELL THAWING*)

DAFTAR ISI

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

Dokumen nomor : CCRC-03-003-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-003-00	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
Isi	Menggunakan format lama Belum ada penomoran dokumen				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-02-003-00	26 Februari 2009	Adam Hermawan Staff CCRC	Aditya Fitriyasi Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
Isi	Menggunakan format baru Sudah ada penomoran dokumen				
No Dokumen	Tanggal	Dibuat oleh	Diperiksa oleh	Diperiksa oleh	Disetujui oleh
CCRC-03-003-01	26 Februari 2010	Adam Hermawan Staff CCRC	Sarmoko Staff CCRC	Muthi' Ikawati Supervisor CCRC	Edy Meiyanto Pimpinan CCRC
Isi	Menggunakan penomoran baru				

B. TUJUAN

Mengatur standar kerja penumbuhan sel dari tangki nitrogen cair (*cell thawing*).

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. Sel ditumbuhkan kembali dalam medium saat akan digunakan dalam uji *in vitro*. Dalam proses penumbuhan sel perlu diperhatikan beberapa faktor agar sel dapat tumbuh dengan baik pada mediumnya, sehingga hasil analisis yang diperoleh menjadi valid.

D. OPERASIONAL

1. Alat

Mikropipet 1000 µl
Conical tube baru
Culture dish baru
Pulpen marker
Sentrifugator
Mikroskop

2. Bahan

MK (DMEM/RPMI)

Dokumen nomor : CCRC-03-003-01	Tanggal :
Mengganti nomor : CCRC-02-003-00	Tanggal : 26 Februari 2009

3. Penumbuhan Sel

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1	Ikuti protokol Persiapan Kerja In Vitro di Laboratorium	
2	Siapkan aliquot MK yang sesuai untuk sel, yaitu 3 ml MK dalam <i>conical tube</i> baru. Masukkan dish untuk subkultur dan beri penandaan terlebih dahulu meliputi nama sel, tanggal, CCRC	<ul style="list-style-type: none"> • Lakukan pekerjaan dengan seaseptis mungkin. • Siapkan terlebih dahulu semua bahan, jika sudah siap baru cairkan suspensi sel, dan tunggu sampai mencair semua, segera lakukan tahapan selanjutnya.
3.	Ambil ampul (<i>cryo tube</i>) yang berisi sel dari tangki nitrogen cair (atau dari freezer -80°C ; berlabel "CCRC").	<ul style="list-style-type: none"> • Pengambilan ampul dilakukan berdasarkan prinsip <i>First In First Out</i> (FIFO) • Pastikan sel yang diambil sudah benar • Setiap pengambilan cryotube ditulis pada LOG BOOK CRYO CCRC
4.	Cairkan suspensi sel dalam <i>cryo tube</i> pada suhu kamar hingga tepat mencair.	Jangan terlalu lama, karena DMSO bersifat sitotoksik terhadap sel.
5.	Ambil suspensi sel dengan mikropipet 1000 μl , masukkan tetes demi tetes ke dalam MK yang telah disiapkan (langkah 1).	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 <i>conical</i> 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> , tuang supernatan MK ke dalam pembuangan.	Lakukan pekerjaan dengan se-aseptis mungkin
9.	Tambahkan 4 ml MK baru, resuspensi kembali sel hingga homogen.	Lakukan pekerjaan dengan se-aseptis mungkin
10.	Transfer masing-masing 2 ml suspensi sel ke dalam 2 dish	Transfer menggunakan mikropipet dan teteskan secara merata
11.	Tambahkan masing-masing 5 ml MK ke dalam dish, homogenkan.	Lakukan pekerjaan dengan se-aseptis mungkin
12.	Amati kondisi sel dengan mikroskop.	Pastikan sel homogen pada seluruh permukaan <i>dish</i> (tidak menggerombol pada bagian tertentu)
13.	Simpan sel ke dalam inkubator CO_2 .	
14.	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 laporkan kepada Staff/Supervisor CCRC