|  | Disiapkan oleh: | Disetujui oleh: | **Ditetapkan oleh:** |
| --- | --- | --- | --- |
| Nama |  |  |
| Jabatan |  |  |
| Tanda Tangan |  |  |
| **STANDAR PROSEDUR OPERASIONAL** | Tanggal Terbit: | Unit Kerja:Integrated Cellular and Molecular Biology Laborator |
| **Metode:**1. BHP dikeluarkan dari freezer dan kulkas, rendam dalam waterbath 37°C lalu keringkan.
2. Masukkan bahan dan alat ke BSC.
3. Buka lapisan parafilm pada bahan.
4. Membuat medium freezing
5. Buang medium lama dalam t-flask ke botol waste.
6. Tambahkan 1 mL PBS ke dalam t-flask, gerakkan t-flask membentuk angka delapan agar seluruh sel terkena PBS, buang PBS ke dalam botol waste.
7. Tambahkan 1 mL PBS-PS ke dalam t-flask, gerakkan t-flask membentuk angka delapan agar seluruh sel terkena PBS-PS, buang PBS-PS ke dalam botol waste
8. Tambahkan 1 mL Trypsin-EDTA (TE) 1X ke dalam t-flask, gerakkan t-flask membentuk angka delapan agar seluruh sel terkena TE 1X, ambil kembali TE 1X sebanyak 950 µL
9. Masukkan t-flask ke dalam inkubator selama 2 menit.
10. Cek kondisi sel menggunakan inverted microscope, lalu ketuk-ketuk t-flask pada meja hingga sel terlepas.
11. Tambahkan 2 ml complete medium ke dalam t-flask.
12. Ambil masing-masing 1 ml dari t-flask ke dalam microtube
13. Sentrifugasi dalam kecepatan 500 rpm selama 5 menit
14. Supernatan dibuang dan pelet diresuspensi menggunakan medium freezing
15. Campuran pelet dan medium freezing dipindahkan ke cryovial dan diberi identitas berupa:
* Nama dan tipe sel
* Passage sel
* Tanggal freezing
* Pelaksana
1. Cryovial ditutup menggunakan parafilm
2. Cryovial disimpan dalam freezer dengan suhu -20°C sebelum dimasukkan ke dalam freezer dengan suhu -80°C
 |