

**PENGARUH EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA  
TERHADAP EKSPRESI PERFORIN DAN INDEKS  
APOPTOSIS**

**(Studi Eksperimental In Vivo Pada Adenocarcinoma Kolon Tikus  
Sprague-Dawley Yang Diberi Neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin)**

**THE EFFECT OF PHALERIA MACROCARPA EXTRACT ON  
PERFORIN EXPRESSION AND APOPTOTIC INDEX  
(Experimental In Vivo Study on Adenocarcinomic colon of  
Sprague-Dawley Rat Given Neoadjuvant 5-FU and Leucovorin)**



**TESIS**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2**

**Magister Ilmu Biomedik**

**Endro Ri Wibowo  
22010111400013**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2015**

## TESIS

# PENGARUH EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA TERHADAP EKSPRESI PERFORIN DAN INDEKS APOPTOSIS

(Studi Eksperimental In Vivo Pada Adenocarcinoma Kolon Tikus  
Sprague-Dawley Yang Diberi Neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin)

disusun oleh

Endro Ri Wibowo  
22010111400013

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 26 Juni 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Disetujui oleh,  
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

dr.Eka Yudhanto, MSi.Med, SpB, Sp.B(K)Onk  
NIP. 196911292008011005

Dr.dr. Selamat Budijitno, MSi.Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk  
NIP.19710807200812 1 001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

dr. A. Zulfa Juniarto, Msi. Med, Sp. And, PhD  
NIP.197006081997021001

## **Pengaruh Ekstrak Phaleria Macrocarpa Terhadap Ekspresi Perforin Dan Indeks Apoptosis**

(Studi Eksperimental In Vivo Pada Adenocarcinoma Kolon Tikus Sprague-Dawley Yang Diberi Neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin)

Wibowo ER\*, Yudhanto E\*\*, Budijitno S\*\*

\*) Residen Bedah Umum Universitas Diponegoro /RSUP Dr. Kariadi, Semarang

\*\*\*) Staf Subbagian Bedah Onkologi Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

### **Abstrak**

#### **Pendahuluan**

Kanker kolorektal adalah kanker terbanyak ketiga pada laki-laki setelah kanker paru dan kanker prostat dan terbanyak ke dua pada wanita setelah kanker payudara. Angka kejadiannya masih tinggi di seluruh dunia dan terus meningkat di negara berkembang. Modalitas utama penanganan kasus ini adalah dengan pembedahan diikuti dengan kemoterapi, radiasi dan imunoterapi. *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) terbukti memiliki efek sitostatika dan dapat meningkatkan imunitas seluler terhadap sel kanker.

#### **Tujuan**

Penelitian ini ingin membuktikan pengaruh pemberian ekstrak buah *P macrocarpa* terhadap tumor kolon dengan mengukur ekspresi perforin dan indeks apoptosis.

#### **Metode**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan rancangan *Randomized post test control group only design* dengan menggunakan binatang percobaan tikus putih betina strain Sprague dawley sebagai objek penelitian. Objek penelitian diinduksi dengan 1,2-DMH subkutan selama 7 minggu sampai muncul kanker kolon kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K, P1 (kelompok *P macrocarpa*), P2 (kelompok kemoterapi), dan P3 (Kelompok kombinasi). Kemoterapi 5FU-leucovorin diberikan sesuai regimen *Rosswell Park*. sebanyak 1 siklus. *P macrocarpa* diberikan dengan dosis 0,495 mg/hari (0,99 mL /hari) per oral. Ekspresi perforin dan indeks apoptosis dinilai dengan pengecatan imunohistokimia.

#### **Hasil**

Dari analisis multivariat ekspresi perforin dan indeks apoptosis, terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$  dan  $p=0,003$  secara berurutan). Dari hasil uji Post Hoc ekspresi perforin, didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan P1 ( $p=0,013$ ) dan P3 ( $p=0,000$ ), antara P1 dengan P2 ( $p=0,006$ ) dan antara P2 dengan P3 ( $0,000$ ). Perbedaan yang tidak bermakna terdapat antara kelompok kontrol dengan P2 ( $p=0,758$ ), dan antara P1 dengan P3 ( $0,133$ ). Pada indeks apoptosis terdapat perbedaan yang bermakna antara

kelompok kontrol dengan P2 ( $p=0,022$ ) dan P3 ( $p=0,001$ ), antara kelompok P1 dengan P3 ( $p=0,008$ ). Perbedaan yang tidak bermakna didapatkan antara kelompok kontrol dengan P1 ( $p=0,254$ ), P1 dengan P2 ( $p=0,203$ ), dan P2 dengan P3 ( $p=0,114$ ). Dari uji korelasi *Spearman* disimpulkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi perforin terhadap indeks apoptosis ( $p = 0,087$  dan  $r = 0,357$ ).

### **Kesimpulan**

*P macrocarpa* memiliki potensi sebagai imunostimulator pada kanker kolon dan mampu menambah efektifitas kemoterapi dalam hal meningkatkan ekspresi perforin dan indeks apoptosis.

Kata kunci : *P macrocarpa*, kanker kolon, ekspresi perforin, indeks apoptosis, kemoterapi

## **The Effect of *Phaleria macrocarpa* extract on Perforin Expression and Apoptosis Index**

(Experimental In Vivo Study on Adenocarcinomic colon of Sprague-Dawley Rat Given Neoadjuvant 5-FU and Leucovorin)

Wibowo ER \*, Yudhanto E \*\*, Budijitno S \* \*

\*) Student of General Surgery Diponegoro University / Dr. Kariadi Hospital,  
Semarang

\*\*) Staff of The Surgical Oncology Division Diponegoro University  
/Dr. Kariadi Hospital, Semarang

### **Abstract**

#### **Background**

Colorectal cancer is the third most frequent cancer in men following lung cancer and prostate cancer, and the second in women following breast cancer. Its incidence rate is high in the world and it continues to rise in developing countries. The main modalities to treat this case is with surgery followed by chemotherapy, radiation and immunotherapy. *P. haleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) is shown to have effects in improving sitostatica and cellular immunity against cancer cells.

#### **Objective**

This study aimed to prove the effect of the *P macrocarpa* extract against colon tumors by measuring the expression of perforin and apoptotic index.

#### **Method**

This research was designed as a randomized laboratory experimental, with *post test only control group design* using animal experiments of female white Sprague Dawley strain rats as the subject. We induced the subject with 1,2-DMH subcutaneous for 7 weeks until the colon cancer develop, the subjects were divided into 4 groups: group K, P1 (group *P macrocarpa*), P2 (chemotherapy group), and P3 (combination group). 5FU-leucovorin chemotherapy was given according *Rosswell Park* regimen in 1 cycle. *P macrocarpa* given in a dose of 0,495 mg / day (0.99 mL / day) orally. The expression of perforin and apoptotic index was assessed by immunohistochemistry staining.

#### **Result**

Multivariate analysis of the perforin expression and apoptotic index showed significant difference ( $p = 0.000$  and  $p = 0.003$ , respectively). From the Post Hoc test of perforin expression, we found a significant difference between the control group and P1 ( $p = 0.013$ ) and P3 ( $p = 0.000$ ), P1 and P2 ( $p = 0.006$ ) and also P2 and P3 ( $p = 0,000$ ). There is a significant difference between the control group and P2 ( $p = 0.758$ ), and between P1 and P3 ( $0.133$ ). We also found a significant

difference in the apoptotic index between the control group and P2 ( $p = 0.022$ ) and P3 ( $p = 0.001$ ), between P1 and P3 ( $p = 0.008$ ). Non significant differences were found between the control group P1 ( $p = 0.254$ ), P1 and P2 ( $p = 0.203$ ), and also P2 and P3 ( $p = 0.114$ ). *S pearman* correlation tention showed no significant correlation between the expression of perforin against apoptotic index ( $p = 0.087$  and  $r = 0.357$ ).

### **Conclusion**

*P macrocarpa* has potential as an immunostimulatory on colon cancer and able to increase the effectiveness of chemotherapy in terms of increasing the expression of perforin and apoptotic index.

Keywords: *P macrocarpa*, colon cancer, perforin expression, apoptotic index, chemotherapy

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, April 2015

Endro Ri wibowo

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Endro Ri Wibowo  
NIM Magister Biomedik : 22010111400013  
Tempat/Tgl Lahir : Banjarnegara, 27 Pebruari 1982  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Laki-laki

### B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Asinan I Banjarnegara : Lulus tahun 1994
2. SMP Negeri I Banjarnegara : Lulus tahun 1997
3. SMUN Banjarnegara : Lulus tahun 2000
4. FK UNDIP Semarang : Lulus tahun 2006
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2011 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2011 - sekarang)

### C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2006-2007 : Dokter Klinik Sapta Mitra, Pondok Kelapa, Jakarta Timur
2. Tahun 2007-2009 : Dokter PTT Puskesmas Kombikuno, Kec. Nababalano, Kab. Muna, Sulawesi Tenggara
3. Tahun 2009-2011 : Dokter Klinik Sapta Mitra, Pondok Kelapa, Jakarta Timur

### D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua  
Ayah : Sudarko  
Ibu : Maryamah
2. Nama Istri : dr. Intan Amelia Wardati
3. Nama Anak : Sahal Abdillah  
Hanan Abdul Basith



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
ABSTRAK .....	iii
PERNYATAAN.....	vii
RIWAYAT HIDUP.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN .....	xvii
KATA PENGANTAR .....	xix
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	7
1.3. Tujuan Penelitian .....	8
1.4. Manfaat Penelitian .....	9
1.5. Keaslian Penelitian .....	10
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	12
2.1. Kanker Kolon.....	12
2.1.1. Epidemiologi.....	12

2.1.2. Etiologi dan Patogenesis .....	13
2.1.3. Klasifikasi .....	16
2.1.4. Penatalaksanaan .....	19
2.2. Respon Immunologik terhadap sel tumor .....	19
2.2.1. Antigen Tumor .....	19
2.2.2. Immunosurveillance kanker .....	21
2.2.3. Mekanisme efektor dalam melawan sel tumor .....	22
2.2.3.1. Sel Natural Killer ( Sel NK) .....	23
2.2.3.2. Makrofag .....	26
2.2.3.3. Limfosit T .....	27
2.2.4. Peranan sistem imun humoral terhadap sel kanker .....	30
2.2.5. Perforin .....	31
2.3. Apoptosis .....	33
2.4 Respon sistem imun pada kanker kolorectal .....	36
2.5. Phaleria macrocarpa .....	38
2.6. 5FU-Leucovorin .....	42
2.7. Induksi kanker kolon .....	46
<b>BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>50</b>
3.1. Kerangka Teori .....	50
3.2. Kerangka Konsep .....	51
3.3. Hipotesis .....	51
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>53</b>
4.1. Rancangan Penelitian .....	53

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian.....	54
4.2.1. Populasi .....	54
4.2.2. Sampel .....	55
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	55
4.4. Variabel Penelitian.....	56
4.4.1. Variabel Bebas .....	56
4.4.2. Variabel Tergantung .....	56
4.4.3. Definisi Operasional .....	56
4.5. Bahan dan Alat Penelitian.....	58
4.5.1. Bahan untuk Perlakuan .....	58
4.5.2. Bahan untuk pemeriksaan histopatologi rutin.....	59
4.5.3. Bahan tambahan untuk pewarnaan imunohistokimia .....	60
4.5.4. Alat untuk untuk perawatan tikus .....	60
4.5.5. Alat untuk pembuatan sediaan pe nelitian dengan pewarnaan H&E .....	60
4.5.6. Alat tambahan untuk pewarnaan imunohistokimia.....	60
4.5.7. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan .....	61
4.6. Prosedur Pengumpulan Data.....	61
4.7. Alur Kerja .....	62
4.8. Prosedur- Prosedur Laboratorium.....	63
4.8.1. Prosedur pembuatan preparat histologi.....	63
4.9. Cara Pengumpulan Data .....	66
4.10. Analisa Data .....	67
4.11. Persyaratan etik.....	67

BAB 5. HASIL PENELITIAN .....	68
5.1 Analisa Deskriptif .....	70
5.1.1. Deskripsi data ekspresi perforin.....	70
5.1.2. Deskripsi data indeks apoptosis .....	71
5.2 Distribusi Data .....	72
5.3 Uji Statistik .....	73
5.3.1. Ekspresi perforin .....	73
5.3.2. Indeks apoptosis .....	75
5.3.3. Korelasi ekspresi perforin dengan indeks apoptosis .....	76
BAB 6. PEMBAHASAN .....	80
BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN .....	84
7.1 Simpulan .....	84
7.2 Saran .....	85
DAFTAR PUSTAKA .....	86
LAMPIRAN .....	99

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Gambar skematis karsinogenesis karsinoma colon .....	16
Gambar 2. Mekanisme sitotoksik CTL pada sel target.....	29
Gambar 3. Skema trejadinya proses apoptosis .....	35
Gambar 4. Proses kerusakan DNA dan RNA oleh 5FU.....	44
Gambar 5. <i>Consolidated report</i> peneliti.....	69
Gambar 6. Grafik box plot ekspresi perforin.....	70
Gambar 7. Grafik box plot indeks apoptosis.....	72
Gambar 8. Pemberian induksi <i>1,2 Dimethylhidrazine</i> secara subkutan... ..	103
Gambar 9. Gambaran makroskopis tumor kolon.....	103
Gambar 10. Gambar hasil pemeriksaan histopatologi adenokarsinoma kolon dengan pengecatan HE, pembesaran 400x.....	104
Gambar 11. Hasil pengecatan perforin dengan pewarnaan <i>antibody</i> <i>monoclonal anti-perforin</i> pada kelompok Kontrol, P1, P2, dan P3 .....	104
Gambar 12. Hasil pengecatan <i>TUNEL Dead End Colotimetric (TDEC)</i> untuk mengetahui indeks apoptosis pada kelompok Kontrol, P1, P2, dan P3 .....	105

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Jenis antigen tumor manusia .....	20
Tabel 2. Nilai IC50 dari ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i> terhadap kanker kolon, kanker payudara, sel HeLa, sel hepar .....	39
Tabel 3. Total kandungan phenol dan flavonoid dari berbagai bagian buah <i>Phaleria macrocarpa</i> .....	42
Tabel 4. Karakteristik data ekspresi perforin.....	70
Tabel 5. Karakteristik data indeks apoptosis.....	71
Tabel 6. Uji normalitas dan homogenitas data ekspresi perforin dan indeks apoptosis.....	73
Tabel 7. Analisis perbedaan ekspresi perforin antar kelompok perlakuan.....	74
Tabel 8. Analisis post hoc ekspresi perforin antar kelompok perlakuan.....	74
Tabel 9. Analisis perbedaan indeks apoptosis antar kelompok perlakuan.....	75
Tabel 10. Analisis post hoc indeks apoptosis antar kelompok perlakuan.....	75
Tabel 11. Deskriptif dan distribusi normalitas data ekspresi perforin dan indeks apoptosis.....	76
Tabel 12. Hasil uji Korelasi Spearman ekspresi perforin dan indeks apoptosis.....	76
Tabel 13. Deskriptif dan distribusi normalitas data ekspresi perforin dan indeks apoptosis kelompok Kontrol P1 .....	77
Tabel 14. Uji korelasi Pearson ekspresi perforin dan indeks apoptosis kelompok Kontrol – P1 .....	78
Tabel 15. Deskriptif dan distribusi normalitas data ekspresi perforin dan indeks apoptosis kelompok kontrol – P2.....	78
Tabel 16. Korelasi Pearson ekspresi perforin dan indeks apoptosis kelompok Kontrol – P2 .....	78

Tabel 17.Deskriptif dan distribusi normalitas data ekspresi perforin dan indeks apoptosis kelompok Kontrol – P3.....	79
Tabel18. Korelasi Pearson ekspresi perforin dan indeks apoptosis kelompok Kontrol – P3 .....	79

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Dosis Konversi .....	99
Lampiran 2. Hasil Pengukuran Penelitian.....	101
Lampiran 3. Foto Penelitian.....	103
Lampiran 4. Gambaran Mikroskopis .....	103
Lampiran 5. Data Statistik .....	106
Lampiran 6. Ethical Clearance.....	114



## DAFTAR SINGKATAN

- |     |        |  |
|-----|--------|--|
| 1.  | APC    | = Adenoma-poliposis coli                           |
| 2.  | ATP    | = Adenosine Tri-Phospate                           |
| 3.  | ADP    | = Adenosine di-Phospate                            |
| 4.  | CEA    | = Carcinoembryonic antigen                         |
| 5.  | CRC    | = Colorectal cancer                                |
| 6.  | CapeOx | = Capecitabin Oxaloplatin                          |
| 7.  | CTL    | = Cytotoxic T lymphocyte                           |
| 8.  | CHEK-1 | = Checkpoint kinase 1                              |
| 9.  | DFS    | = Disease Free Survival                            |
| 10. | DNA    | = Deoxyribonucleic acid                            |
| 11. | DCC    | = Deleted in colon cancer                          |
| 12. | DCC    | = Deleted in Colon Cancer                          |
| 13. | DPD    | = Dihydropyrimidine dehydrogenase                  |
| 14. | DHFU   | = Dihydrofluorouracil                              |
| 15. | FADD   | = Fas-Associated Death Domain                      |
| 16. | FLICE  | = FADD-Like IL-1 Converting Enzyme                 |
| 17. | FOLFOX | = Folinic acid Leucovorin Fluorouracil Oxaliplatin |
| 18. | FADD   | = Fas-Associated Death Domain                      |
| 19. | FLICE  | = FADD-Like IL-1 Converting Enzyme                 |
| 20. | FUR    | = Fluorouridine                                    |
| 21. | FUTP   | = Fluorouridine triphosphate                       |
| 22. | FdUTP  | = 5-fluoro-deoxyuridine trphosphate                |
| 23. | FUMP   | = Fluorouridine monophosphate                      |
| 24. | FdUMP  | = 5-fluoro-deoxyuridine monophosphate              |
| 25. | FUDR   | = Fluorouridine diphosphate                        |
| 26. | HNPCC  | = Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer             |
| 27. | HLA-G  | = Human Leukocyte Antigen G                        |

- 28. IAP = Inhibitor of Apoptosis Protein
- 29. IL = Interleukin
- 30. IFN = Interferon
- 31. LCS = Liquor Cerebro Spinalis
- 32. MSI = Microsatellite Instability
- 33. MMR = Mismatch repair
- 34. NCCN = National Comprehensive Cancer Network
- 35. NK cel = Natural Killer cell
- 36. OPRT = Orotic acid phosphoribosyltransferase.
- 37. PRPP = Phosphoribosyl pyrophosphate
- 38. RR = Ribonucleotide reductase
- 39. TNF = Tumor Necrotizing Factor
- 40. TK = Thymidylate synthase
- 41. TP = Thymidine phosphorylase
- 42. UTP = Uridine Tri-Phosphate
- 43. UMP = Uridine Mono-Phosphate
- 44. UP = Uridine phosphorylase
- 45. UK = Uridine kinase

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul: **PENGARUH EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA TERHADAP EKSPRESI PERFORIN DAN INDEKS APOPTOSIS (Studi Eksperimental In Vivo Pada Adenocarcinoma Kolon Tikus Sprague-Dawley Yang Diberi Neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin)**

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Tesis ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu di bidang bedah terutama onkologi

Pada kesempatan yang baik ini, ingin kami menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. dr. Sahal Fatah, Sp.B.Sp.BTKV. selaku Kepala Bagian / SMF Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik serta perhatian, dorongan, dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

2. dr. Benny Issakh, Sp.B.Sp.B.(K)Onk. selaku Ketua Program Studi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik serta perhatian dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
3. dr.Eka Yudhanto, MSi.Med, Sp B, Sp. B(K)Onk guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai.
4. Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si Med, Sp.B.(K)Onk guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, yang selalu meluangkan waktu, dan tenaga dalam membimbing tesis ini hingga selesai.
5. Prof. Drs. Sudharto P. Hadi, MS, Ph.D selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
7. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
8. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
9. dr. A. Zulfa Juniarto, Msi. Med, Sp. And, PhD, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
10. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan

kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.

11. Semua rekan sejawat Residen Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, karyawan dan karyawan Bagian Bedah, karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro serta staf yang telah membantu kami selama dalam penelitian hingga penyusunan tesis.
12. Yang tercinta istri ; Intan dan anak kami; Sahal dan Hanan atas kesabaran, dukungan moral dan semangat bagi kami untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
13. Orang tua kami Bapak Sudarko dan Ibu Maryamah atas dukungannya dalam menyelesaikan tesis ini.
14. Mertua Bapak Masyhuri dan Ibu Muallimatun atas dukungannya yang telah diberikan.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan tesis ini. Akhir kata, kami mohon maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak sengaja baik itu perkataan atau perbuatan yang kami lakukan selama kami menyelesaikan tesis ini.

Semarang, April 2015

Endro Ri Wibowo