

UJI AKTIVITAS ANTI JAMUR EKSTRAK INFUSA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP *Candida albicans*

ANTI FUNGUS ACTIVITY TEST FOR SOURSOP (*Annona muricata* L.) LEAF INFUSION EXTRACT AGAINST *Candida albicans*

Risa Wahyuningsih¹, Kartinah Wiryosoendjyo²

¹Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Banjarmasin

²Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta

Korespondensi: risawranan027@gmail.com

ABSTRACT

Candidiasis attacks many people in tropical regions such as Indonesia, this is due to Indonesia having high rainfall and high humidity so that mushroom growth is very good. Candidiasis is a fungal disease, which is acute or sub-acute caused by Candida albicans. Candida albicans is a pathogenic fungus that causes the vaginal discharge. Since ancient times the Indonesian people have known and used medicinal plants as a remedy for health problems. Soursop (Annona muricata L.) is one of the traditional medicinal plants which contains chemical compounds namely tannins, phytosterols, calcium oxalates and murisine alkaloids which can be used as antifungal agents. This study aims to determine the activity of soursop leaf infusion in inhibiting or killing the growth of the fungus Candida albicans. The study was conducted at the Mycology Laboratory of Poltekkes Kemenkes Banjarmasin. The research is experimental with a post-test only design. Soursop leaf extraction uses the infusion method. The method used is the dilution method. Antifungal activity was observed by looking at clarity and turbidity at 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.13%; 1.56%; 0.79%; 0.40%; 0.20% and 0.10%. The medium used was SGA (Sabouraud Glucose Agar) medium which was added with 75 ppm of Chloramphenicol Antibiotic and SGC (Sabouraud Glucose Liquid) medium. Soursop leaf infusion has the activity of inhibiting and killing the growth of the fungus Candida albicans. Soursop leaf infusion showed MIC and CBC at a concentration of 12.5%.

Keywords : *Soursop Leaf Extract, Antifungal, Candida albicans*

ABSTRAK

Kandidiasis banyak menyerang masyarakat di daerah tropis seperti Indonesia, hal ini disebabkan Indonesia memiliki curah hujan yang tinggi dan kelembapan yang tinggi sehingga pertumbuhan jamur menjadi sangat baik. Kandidiasis adalah suatu penyakit jamur, yang bersifat akut atau sub akut disebabkan oleh *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan salah satu jamur patogen penyebab keputihan. Sejak jaman dahulu masyarakat Indonesia telah mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai penanggulangan masalah kesehatan. Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang mengandung senyawa kimia yaitu tanin, fitosterol, kalsium oksalat dan alkaloid murisine yang dapat digunakan sebagai anti jamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas infusa daun sirsak dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikologi Poltekkes Kemenkes Banjarmasin. Penelitian bersifat *experimental* dengan desain *post-test only*. Ekstraksi daun sirsak menggunakan metode infusa. Metode yang digunakan adalah metode dilusi. Aktivitas anti jamur diamati dengan melihat kejernihan dan kekeruhan pada 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,79%; 0,40%; 0,20% dan 0,10%. Medium yang digunakan adalah medium SGA (Sabouraud Glucose Agar) yang ditambahkan Antibiotik Khloramfenikol 75 ppm dan medium SGC (Sabouraud Glucose Cair). Infusa daun sirsak mempunyai aktivitas menghambat dan membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Infusa daun sirsak menunjukkan KHM dan KBM pada konsentrasi 12,5%.

Keywords: Ekstrak Daun Sirsak, Antijamur, *Candida albicans*.

PENDAHULUAN

Sejak jaman dahulu masyarakat Indonesia telah mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai penanggulangan masalah kesehatan. Pengetahuan tentang obat ini merupakan warisan budaya bangsa sebelum pelayanan kesehatan dengan obat-obatannya menyentuh masyarakat (Permata *et al.*, 2013).

Dari sekian banyak jenis tanaman berkhasiat obat yang ada, dipilihlah penelitian tentang daun sirsak terhadap *Candida albicans*. Dalam hal ini, bagi sebagian masyarakat Indonesia tumbuhan sirsak (*Annona muricata* L.) masih belum banyak literatur maupun penelitian ilmiah yang mengungkapkan khasiatnya. Maka daun sirsak cenderung kurang di manfaatkan secara optimal dibandingkan penggunaan buahnya yang sering dimanfaatkan secara komersil. Banyak juga masyarakat yang akhirnya menganggap daun sirsak sebagai sampah yang tidak

memiliki kegunaan (Damico *et al.*, 2003). Namun penelitian terbaru memberikan data empiris bahwa masyarakat dapat memanfaatkannya untuk proses penyembuhan berbagai penyakit dimana Daun sirsak bermanfaat untuk tubuh antara lain menyembuhkan kanker, obat luka, batuk, rematik, sakit pinggang, dan bisul (Kumar *et al.*, 2012). Karena hampir semua bagian tumbuhan ini bermanfaat, khususnya daunnya yang mengandung tanin, fitosterol, kalsium oksalat dan alkaloid murisine (Kumar *et al.*, 2012). Tanaman sirsak juga berfungsi sebagai anti bakteri, anti jamur melawan berbagai jenis parasit atau cacing, menurunkan tekanan darah tinggi, depresi, stres, dan menormalkan kembali sistem syaraf yang kurang baik (Damico *et al.*, 2003).

Kandidiasis banyak menyerang masyarakat di daerah tropis seperti Indonesia, hal ini disebabkan Indonesia memiliki curah hujan yang tinggi dan

kelembapan yang tinggi sehingga pertumbuhan jamur menjadi sangat baik. Kandidiasis adalah suatu penyakit jamur, yang bersifat akut atau sub akut disebabkan oleh *Candida albicans* (Gomes *et al.*, 2012). *Candida albicans* yang dapat diisolasi dari kulit, mulut, selaput mukosa vagina atau feses orang normal dan dapat menyerang daerah kulit, mulut, selaput mukosa vagina, kuku, bronki atau paru-paru. Penyakit ini ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang semua umur baik laki-laki maupun perempuan. Sifat-sifat dari jamur *Candida albicans* antara lain meliputi, patogenitas yaitu jamur *Candida* dapat hidup sebagai saprofit atau sebaliknya disebut saproba, tanpa menyebabkan suatu kelainan apapun didalam berbagai alat tubuh baik manusia maupun hewan. Jamur ini pada keadaan tertentu dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan penyakit yang disebut kandidiasis. (Hoehamer *et al.*, 2010). *Candida albicans* dianggap spesies terpatogen dan menjadi etiologi terbanyak kandidiasis, yang meliputi patologi yaitu *Candida albicans* mempunyai sifat patogenitas yang tidak berhubungan dengan bentuk blastospora atau miselium. Terjadinya kedua bentuk tersebut dapat dipengaruhi oleh tersedianya nutrisi. Bentuk blastospora diperlukan untuk memulai suatu invasi. Blastospora memang

tidak dapat menginvasi jaringan, tetapi blastospora mengeluarkan zat yang merusak jaringan. Zat tersebut merupakan suatu enzim histolitik yang dapat dibentuk oleh spora itu, yang mempunyai peran penting dalam patogenitas. Peran enzim ini lebih penting dari pada toksin (Mohamadi, *et al.*, 2015).

Penelitian terhadap daun sirsak sebagai alternatif pengobatan jamur sangat menarik untuk mengetahui kebenaran mengenai manfaatnya sebagai antijamur. Penelitiannya yaitu dengan cara membuat ekstrak infusa daun sirsak. Peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana aktivitas daun sirsak sebagai obat antijamur khususnya *Candida albicans*.

METODE

Penelitian ini adalah eksperimental dengan desain *post-test only*. Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Poltekkes Kemenkes Banjarmasin. Pelaksanaan penelitian yaitu dari tanggal 1-13 September 2019. Populasi daun sirsak yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman sirsak (*Annona Muricata L.*), diperoleh dari daerah Cempaka, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Sampel daun sirsak yang digunakan adalah daun yang diambil dari tanaman dewasa, karena pada usia panen tersebut zat-zat metabolit dalam daun optimal Pemetikan sebaiknya dilakukan

dengan menggunakan gunting, dipotong pada bagian pangkal daun. Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *Candida albicans*. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium SGA (Sabouraud Glucose Agar) + khloramfenikol 75 ppm dan medium SGC (Sabouraud Glucose Cair).

Identifikasi jamur *Candida albicans* dilakukan pada medium Sabouraud Glucose Agar yang dieramkan pada suhu kamar 1–2 hari akan terbentuk koloni-koloni lunak yang berwarna krem dan berbau seperti ragi. Biakan *Candida* muda akan membentuk germ tube bila diletakkan dalam serum selama 3 jam pada suhu 37°C. Pembuatan ekstrak infusa daun sirsak yaitu dengan cara daun sirsak dipetik kemudian dicuci dengan air mengalir, kemudian dirajang halus dengan pisau. Ditimbang 50 gram daun yang telah dirajang kemudian diletakkan dalam panci infus bagian dalam. Pada panci infus bagian luar diberi air sampai setengah bagian atau lebih. Daun sirsak yang terdapat dalam panci ditambah dengan air sebanyak 100 ml lalu panaskan selama 15 menit terhitung mulai mencapai suhu 90-98°C sambil sekali-kali diaduk. Saring selagi panas melalui kain flanel, kemudian ditambahkan air panas melalui ampas sampai volume yang dikehendaki. Pembuatan suspensi jamur uji Diambil

beberapa ose biakan *Candida albicans*, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml garam fisiologis. Campuran dikocok hingga homogen, disetarakan Standart Brown II. Suspensi yang didapat diencerkan 1 : 1000 dengan larutan garam fisiologis steril. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian anti jamur.

Pengujian anti jamur dilakukan dengan metode dilusi atau seri pengenceran dengan interval pengenceran dua kali. Disiapkan 12 tabung reaksi, kemudian tiap tabung dimasukkan sebanyak 0,5 ml SGC secara aseptis. Tabung 1 diisi 1 ml infusa, dikocok. Sebanyak 1 ml dari tabung 1 dipindahkan ke tabung 2, kocok. Perlakuan sama juga dilakukan untuk tiap tabung berikutnya sampai tabung 11. Ditambahkan 0,5 ml jamur uji (*Candida albicans*) yang telah diencerkan 1:1000 pada semua tabung kecuali tabung 11. Tabung terakhir sebagai kontrol positif sedangkan tabung 11 sebagai kontrol negatif. Semua tabung diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu kamar, kemudian diamati adanya pertumbuhan (kekeruhan) dengan cara membandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif.

Menentukan KHM (Konsentrasi Hambatan Minimal) berdasarkan tabung reaksi yang tidak menunjukkan kekeruhan dapat diamati secara visual. Untuk mengetahui dan membedakan lebih pasti

KHM (Konsentrasi Hambatan Minimal) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) diperlukan inokulasi pada medium SGA (Saboroud Glukosa Agar) dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1-2 hari. KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur pada medium SGA (Saboroud Glukosa Agar) dalam cawan petri.

Jika dibandingkan antara kekeruhan dalam tabung reaksi dengan pertumbuhan koloni dalam cawan petri, maka dapat ditentukan dan dapat dibedakan antara KHM (Konsentrasi Hambatan Minimal) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal).

Konsentrasi infusa yang berasal dari 100% menjadi: 50% pada tabung nomor 1, konsentrasi 25% pada tabung nomor 2, konsentrasi 12,5% pada tabung nomor 3, konsentrasi 6,25% pada tabung nomor 4 dan seterusnya. Pada tabung nomor 11 digunakan sebagai kontrol negatif dan tabung nomor 12 digunakan sebagai kontrol positif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas infusa daun sirsak terhadap jamur *Candida albicans* dengan metode dilusi. Infusa daun sirsak dibuat dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%;

3,13%; 1,56%; 0,79%; 0,40%; 0,20%; dan 0,10%.

Suspensi jamur yang digunakan disesuaikan kekeruhannya dengan Standard Brown II yang telah diencerkan dengan garam fisiologis 1000 kali. Ada atau tidaknya aktivitas anti jamur dapat dilihat dari tingkat kekeruhan pada tabung percobaan yang kemudian ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), kemudian dari hasil tersebut pada tabung yang jernih dilakukan goresan untuk ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Hasil penelitian yang diperoleh adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Hasil Uji Aktifitas Anti Jamur pada metode KHM



Gambar 2. Hasil Uji Aktifitas Anti Jamur pada metode KBM

Tabel 1. Hasil Penelitian KHM dan KBM Infusa Daun Sirsak terhadap Jamur *Candida albicans*

Konsentrasi Infusa Daun Sirsak	Hasil Penelitian	
	Kekeruhan suspensi jamur pada tabung reaksi	Inokulasi suspensi jamur pada medium SGA
50%	Jernih	Tidak tumbuh
25%	Jernih	Tidak tumbuh
12,5%	Jernih	Tidak tumbuh
6,25%	Keruh	Tumbuh
3,13%	Keruh	Tumbuh
1,56%	Keruh	Tumbuh
0,79%	Keruh	Tumbuh
0,40%	Keruh	Tumbuh
0,20%	Keruh	Tumbuh
0,10%	Keruh	tumbuh
Kontrol Negatif	Jernih	Tidak tumbuh
Kontrol Positif	Keruh	Tumbuh

Keterangan :

1. Pada kolom kekeruhan suspensi jamur pada tabung reaksi dapat diamati ada atau tidaknya aktivitas anti jamur dilihat dari tingkat kekeruhan pada tabung percobaan.

2. Pada kolom inokulasi suspensi jamur pada medium SGA dapat diamati ada atau tidak adanya pertumbuhan jamur pada medium SGA (Sabouroud Glukosa Agar) dalam cawan petri.
3. Tabung 11 adalah kontrol negatif, berisi medium SGC dan infusa daun sirsak.
4. Tabung 12 adalah kontrol positif, berisi medium SGC dan suspensi jamur *Candida albicans*.

Penyarian yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan pembuatan infusa, pembuatan infusa adalah dengan merebus daun sirsak dengan menggunakan panci infusa selama 15 menit terhitung mulai dari suhu 90°C, larutan penyari yang digunakan adalah air maka senyawa – senyawa yang larut dalam air saja (Permatasari *et al.*, 2013).

Kelebihan dari metode ini selain pembuatannya singkat dan cepat, alat dan bahan yang digunakan tidak terlalu banyak dan mudah didapat. Kekurangan dari metode ini adalah air sebagai pelarut penyari menyebabkan kemungkinan zat aktif yang tersari tidak sempurna. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium SGA yang ditambahkan khloramfenikol 75 ppm. Karena medium SGA mengandung pepton sebagai sumber makanan untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans*, glukosa adalah sumber energi untuk jamur *Candida albicans* dan khloramfenikol merupakan antibiotik berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Permatasari *et al.*, 2013).

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jamur antara lain adalah suhu. Suhu inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu kamar. Karena jamur *Candida albicans* bersifat mesofilik, yaitu jamur yang dapat tumbuh baik pada suhu kamar. Suhu optimum untuk kebanyakan jamur terutama jamur *Candida albicans* adalah sekitar 25-30°C.

Pengujian aktivitas infusa daun sirsak terhadap jamur *Candida albicans* dilakukan dengan metode dilusi. Ada atau tidaknya aktivitas anti jamur dapat dilihat dari tingkat kekeruhan pada tabung percobaan yang kemudian ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), kemudian dari hasil tersebut pada tabung yang jernih dilakukan goresan untuk ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM).

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas daun sirsak terhadap *Candida albicans*. Metode yang digunakan adalah dilusi. Metode dilusi (pengenceran) berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan. Metode ini dapat menentukan secara kuantitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman. Prinsip dari metode dilusi adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam pembenihan (medium) cair oleh suatu obat yang dicampur ke dalam pembenihan.

Pembenihan yang dipakai harus dapat menumbuhkan kuman secara optimal dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Sari *et al.*, 2010). Keuntungan metode dilusi adalah hasil yang didapat akurat, dan bisa dipakai untuk menguji aktivitas/sensitifitas infusa sampai konsentrasi terkecil. Sedangkan metode difusi hanya dapat diperoleh zona radikal (membunuh) dan irradikal (menghambat).

Hasil penelitian seperti yang tercantum pada tabel 1, menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi infusa daun sirsak maka larutan semakin keruh (+). Kekeruhan suspensi pada tabung reaksi menunjukkan adanya pertumbuhan *Candida albicans*, semakin keruh suspensi berarti semakin banyak *Candida albicans* yang tumbuh. Pada penelitian ini menunjukkan semakin rendah konsentrasi infusa daun sirsak semakin rendah aktivitas hambat dan bunuh terhadap *Candida albicans* (Abad *et al.*, 2015).

Konsentrasi hambat minimum ditunjukkan pada konsentrasi terkecil infusa daun sirsak pada tabung reaksi yang jernih dan jika diperlakukan inokulasi pada medium Sabouraud Glucose Agar padat akan tumbuh koloni. Konsentrasi bunuh minimum ditunjukkan pada konsentrasi infusa daun sirsak yang jernih jika dilakukan perataan pada medium Sabouraud

Glucose Agar tidak di tumbuh jamur uji (Garnacho *et al.*, 2012).

Tabung reaksi yang berisi infusa daun sirsak dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan suspensi *Candida albicans*, setelah diinkubasi 5 hari tetap jernih dan setelah dilakukan perataan pada media SGA tidak tumbuh koloni. Sedangkan pada tabung reaksi yang berisi suspensi jamur dan infusa daun sirsak dengan konsentrasi 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,79%, 0,40%, 0,20% dan 0,10%, larutan menjadi coklat keruh setelah diinkubasi pada waktu yang sama. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak infusa daun sirsak mempunyai aktivitas hambat minimum terhadap *Candida albicans* pada konsentrasi 12,5% dan aktivitas bunuh minimum *Candida albicans* pada konsentrasi 12,5%. (Suyoso, 2013).

Kemungkinan efek anti jamur infusa daun sirsak disebabkan karena adanya senyawa tanin, fitosterol, kalsium oksalat dan alkaloid murisine. Alkaloid murisine yang tergolong dalam senyawa fenol. Senyawa fenol dapat mengakibatkan denaturasi protein membran, kemudian senyawa ini bisa menembus nukleus dan menyebabkan degradasi protein nukleus yang mengakibatkan kematian sel (dalam hal ini sel *Candida albicans*) (Suyoso, 2013). Tanin dalam daun ini diduga memiliki efektifitas dalam menghambat

atau membunuh jamur *Candida albicans*. Tanin memiliki arti pertahanan bagi tubuh, membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan, mempunyai aktifitas anti oksidan dan berkhasiat bagi antiseptik. Hal ini menyebabkan infusa daun sirsak berkhasiat sebagai antiseptik (Sari *et al.*, 2010).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Infusa daun sirsak mempunyai aktivitas untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
2. Infusa daun sirsak menunjukkan KHM dan KBM pada konsentrasi 12,5%.

DAFTAR RUJUKAN

- Abad, H.S.E., Zaini, F., Kordbacheh, P., Mahmoudi, M., Safara, M., Mortezaee, V., 2015, In Vitro Activity of Caspofungin Against Fluconazole-Resistant *Candida* Species Isolated From Clinical Samples in Iran, *Jundishapur Journal Microbiol*, 8(6):1-4.
- Damico, D.C.S., Freire, M.G.M., Gomes, V.M., Toyama, M.H., Marangoni, S., Novello, J.C., Macedo, M.L.R., 2003,

- Isolation and characterization of a lectin from *Annona muricata* seeds, *Journal of Protein Chemistry*. 22: 655-661.
- Garnacho, M.J., Diaz, M.A., Ruiz, P.D.P.M., Garcia, Cabrera E., 2012, Invasive Fungal Infection in Critically ill Patients, *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 30 (6): 38-43.
- Gomes, B.S., Siquiera, A.B.S., Maia, R.C.C., Giampaoli, V., Teixeiras, E.H., Arrudas, F.V.S., Nascimento, K.S., Lima, A.N., Motta, C.M.S., Cavada, B.S., Porto, A.L.F., 2012, Antifungal Activity of Lectins Against Yeast of Vaginal Secretion, *Brazilian Journal of Microbiology*: 770-778.
- Hoehamer, C.F., Cummings, E.D., Hilliard, G.M., Rogers, P.D., 2010, Changes in the proteome of *Candida albicans* in response to azole, polyene, and echinocandin antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 54(5):1655–1664.
- Kumar, N., Rajkumar, V., Suresh, P.K., Kumar, R.A., Cijo, G.V., 2012, Quantitative Assesment of the Relative Antineoplastic Potensial of the n-butanolic Leaf Extract of *Annona Muricata* Linn. In Normal and Immortalized Human Cell Lines, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol.13: 699-703.
- Mohamadi, J., Havasian, M.R., Panahi, J., Pakzad, I., 2015, Antifungal drug resistance pattern of *Candida*. spp isolated from vaginitis in Ilam-Iran during 2013-2014, *Bioinformation* 11(4): 203-206.
- Permatasari, G.A.A.A., Besung, I.N.K., Mahatmi, H., 2013, Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*, *Indonesia Medicus Veterinus*, 2,: 162-169.
- Sari, Y.D., Djannah, S.N., Nurani, L.H., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) secara in vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya, *Kes Mas* Vol 4 No. 3: 218 – 238.

Suyoso, S., 2013, Kandidiasis Mukosa, Departemen/ SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr. Soetomo Surabaya.