

Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 6538 dan *Escherichia coli* Atcc 11229 Secara *Invitro*

Ratih Pramuningtyas, Rahadiyan W.B.

Email: pramuningtyas_dr@yahoo.com

Abstract

Cocor Bebek leaves (*Kalanchoe pinnata*) contains cinamic acid, flavonoid, alphanatocopherol dan bufadienolide acid which are presumably able to impede a bacterial growth so that the ethanol extract of cocor bebek leaves are indicated having an antimicrobe effect. This research purposes to find out the existence and nonexistence of the impeding power of the ethanol extract of cocor bebek leaves (*Kalanchoe pinnata*) on the *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacterias growth. The research is laboratory experimental with the ethanol extract of cocor bebek leaves (*Kalanchoe pinnata*) as the research subject. Bacterias which are used are *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Escherichia coli* ATCC 11229. The research method is Kirby Bauer by using an oxoid disk. The first step is standardizing each of 24 hours-aged *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* on BAP and Mc. Conkey medias in the standard of 0.5 Mc.Farland, then smearing using a sterile cotton-rid on Muller Hinton media. The researcher uses an empty oxoid disk as a negative control, an amoxicillin antibiotic disk on *Staphylococcus aureus* and a chloramphenicol on *Escherichia coli* as a positive control, while the researcher also places the oxoid disk containing the ethanol extract of cocor bebek leaves (*Kalanchoe pinnata*) with 20%, 40%, 60%, 80% and 100% concentrations on the top of the plates. Then the researcher measures the impeding zone which is formed after the incubation on 37°C for 1x24 hours. After that, the researcher analyzes the data using Mann-Whitney Non Parametry Test. The result is that on the degrees of 80% and 100%, *Staphylococcus aureus* bacteria has a significant difference ($p < 0,05$) from the positive and negative controls. In conclusion, this research proves the existence of the antibacteria effect of the ethanol extract of cocor bebek leaves (*Kalanchoe pinnata*) on the *Staphylococcus aureus* growth in the concentrations of 80% and 100% and the nonexistence of the antibacteria effect on the *Escherichia coli* growth.

Keywords: ethanol extract, cocor bebek leaves (*Kalanchoe pinnata*), antibacteria, *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang dapat diolah menjadi berbagai macam obat. Sejak ribuan tahun yang lalu, obat-obatan tradisional telah banyak digunakan dan menjadi budaya di Indonesia dalam bentuk ramuan jamu. Obat-obatan tradisional tersebut tidak hanya digunakan dalam fase pengobatan saja, melainkan juga digunakan dalam fase preventif, promotif dan rehabilitasi. Menurut penelitian obat-obatan tersebut banyak digunakan karena keberadaannya yang mudah didapat, ekonomis, dan menurut penelitian memiliki efek samping relatif rendah serta adanya kandungan yang berbeda yang memiliki efek saling mendukung secara sinergis. Namun selain keuntungan yang dimilikinya, bahan alam juga memiliki beberapa kelemahan seperti: efek farmakologisnya yang lemah, bahan baku belum

terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme serta adanya potensi toksisitas oleh toksik endogen yang terkandung didalamnya (Katno, 2004).

Obat bahan alam Indonesia dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu jamu yang merupakan ramuan tradisional yang belum teruji secara klinis, obat herbal yaitu obat bahan alam yang sudah melewati tahap uji praklinis, sedangkan fitofarmaka adalah obat bahan alam yang sudah melewati uji praklinis dan klinis (SK Kepala BPOM No. HK.00.05.4.2411 tanggal 17 Mei 2004).

Salah satu dari keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional adalah cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) Tanaman ini termasuk tanaman sukulen (mengandung air) yang berasal dari Madagaskar. Tanaman ini terkenal dikarenakan cara

reproduksinya melalui tunas daun (tunas adventif). *Kalanchoe* kaya akan kandungan alkaloid, triterpenes, glikosida, flavonoid, steroid dan lipid. Sedangkan pada daunnya terkandung senyawa kimia yang disebut *bufadienolides*. *Bufadienolides* pada *Kalanchoe pinnata* memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri, antitumor, pencegah kanker, dan insektisida (Lana, 2005).

Sehubungan dengan adanya indikasi ekstrak daun *Kalanchoe pinnata* mempunyai daya anti bakteri, maka untuk membuktikan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari ekstrak tanaman tersebut. Pada uji aktivitas bakteri ini digunakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri kokus gram positif (+) dan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri batang gram negatif (-) (Jawetz et al, 2001).

Material dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode *post test design only* karena peneliti memberi pelakuan terhadap subjek dan mengevaluasi hasil akhirnya.

Instrumentasi

1. Instrumen

Instrumen yang digunakan adalah sebagai berikut:

- Alat ekstraksi : Blender, seperangkat alat maserasi, tabung reaksi, alat timbang, penangas air
- Alat uji aktivitas bakteri : Ose kolong, tabung reaksi, plat diameter 15 cm, autoklaf, inkubator.

2. Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah sebagai berikut:

- Bahan utama berupa daun cocor bebek (*Kalanchoepinnata*).
- Bahan penyari : Etanol 70%, aquades steril.
- Bahan uji aktivitas antibakteri : Media Muller Hinton, BHI, BAP, *Nutrient Agar Plate*, aquades, alkohol 70%, Standar 0,5 Mc. Farland, NaCl fisiologis, disk antibiotik amoksisilin 20 µg, disk antibiotik kloramfenikol 30 µg, disk oksoid kosong.
- Biakan bakteri : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 11229.

Cara Kerja

1. Determinasi tanaman

Untuk memastikan bahan yang akan dijadikan bahan ekstrak adalah tanaman *Kalanchoe*

pinnata maka dilakukan determinasi tanaman di laboratorium Biologi FKIP UMS dengan menggunakan bahan acuan "*Flora of Java*" (Backer, 1968).

2. Persiapan ekstrak etanol *Kalanchoepinnata*

Dilakukan proses pembuatan ekstrak etanol *Kalanchoe pinnata* melalui metode maserasi sehingga didapatkan ekstrak etanol *Kalanchoe pinnata* dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40% dan 20% di laboratorium Farmakologi FK UMS. Selanjutnya rendam cakram kosong pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol *Kalanchoe pinnata* selama 15 menit.

3. Persiapan kontrol positif dan kontrol negatif

Untuk kontrol positif terhadap kuman gram positif *Staphylococcus aureus* digunakan cakram amoksisilin 20 µg sedangkan kontrol positif terhadap kuman gram negatif *Escherichia coli* digunakan cakram kloramfenikol 30 µg. Untuk kontrol negatif digunakan cakram kosong yang telah direndam dalam larutan akuades.

4. Persiapan alat uji aktivitas antibakteri

Alat-alat yang akan digunakan pada proses uji aktivitas antibakteri terlebih dahulu dicuci bersih kemudian dikeringkan dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Persiapan suspensi bakteri

Ambil 1 ose bakteri dari biakan dan tanam pada media Mc.Conkey (*Escherichia coli*) dan media agar darah (*Staphylococcus aureus*). Eramkan selama 24 jam pada suhu 37°C hingga didapatkan koloni kuman.

Ambil 1 ose bakteri dari koloni kuman untuk masing-masing spesies kuman untuk kemudian masing-masing ditanam pada 0,5 ml media BHI cair dan dieramkan selama 5-8 jam pada suhu 37°C.

Siapkan 2 ml NaCl fisiologis steril dalam tabung reaksi. Kemudian ambil beberapa ose bakteri *Staphylococcus aureus* dari biakan dan masukkan kedalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis, dikocok sampai homogen untuk kemudian bandingkan dengan suspensi 0,5 Mc.Farland (10⁸CFU/ml). Bakteri diambil dengan kapas lidi steril, dioleskan pada agar Muller Hilton dan diratakan. Lakukan hal serupa pada biakan *Escherichia coli*.

6. Pelaksanaan uji antibakteri

Siapkan 2 plat media Muller Hilton yang kemudian pada plate pertama diolesi secara

merata dengan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah dibandingkan dengan standar 0,5 Mc.Farland. Untuk plate yang kedua diolesi secara merata dengan bakteri *Escherichia coli* yang telah dibandingkan dengan standart 0,5 Mc. Farland. Kemudian pada masing-masing plate diletakkan disk yang telah mengandung ekstrak etanol daun *Kalanchoe pinnata* 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, kontrol positif dan kontrol negatif. Atur jarak antar cakram sedemikian rupa agar tidak terlalu berdekatan. Selanjutnya inkubasi plate pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona hambatan yang terbentuk diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

7. Replikasi

Uji antibakteri ekstrak etanol daun *Kalanchoe pinnata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 dilakukan sebanyak 5 kali ulangan sesuai dengan perhitungan dengan menggunakan rumus estimasi besar sampel.

Hasil Penelitian

A. Hasil Determinasi

Telah dilakukan determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan UMS dengan menggunakan sampel tanaman yang akan digunakan sebagai bahan pembuatan ekstrak.

Hasil determinasi tersebut memiliki kunci determinasi : 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14b, 16b, 286a, 287b => Familia : Crassulaceae.

1 ==> Genus : *Kalanchoe*

1 ==> Spesies : *Kalanchoe pinnata* L

(Van Steenis, 2003; Tjitrosoepomo, 1988)

B. Hasil Penelitian

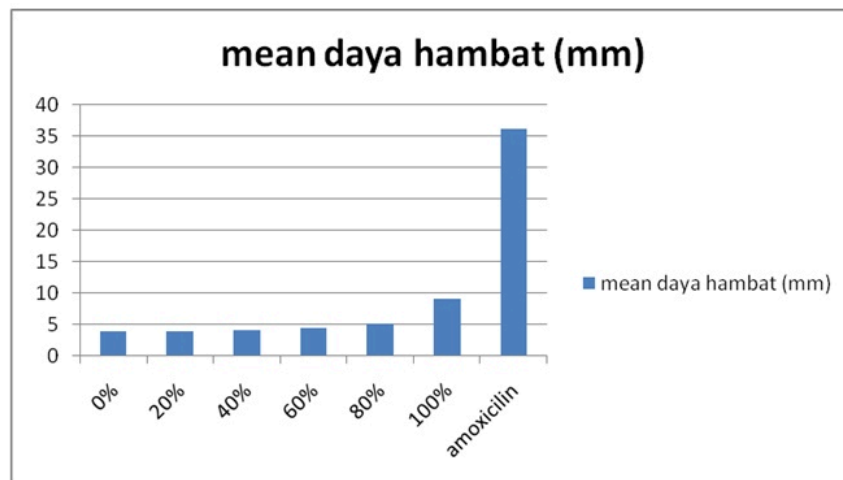
Penelitian mengenai efek antibakteri ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diperoleh hasil sebagai berikut.

Hasil tes terhadap biakan *Staphylococcus aureus*

Tabel 1: daya hambat antimikroba ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap *Staphylococcus aureus* (mm)

Replikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	0%	20%	40%	60%	80%	100%	Amoksisilin	
1		4	4	4	5,5	5,2	8	39,6
2		4	4	4	4	5,5	7,1 3	5,6
3		4	4	4,5	4,8	5,3	10,7	33,8
4		4	4	4	4,5	5,3	10,5	37,5
5		4	4	4	4	4	9	34,2
Σrata-rata		4	4	4,1	4,5 6	5,1	9,06	36,14

Grafik1 : daya hambat antimikroba ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap *Staphylococcus aureus* (mm)



Tabel 2: Tes Mann-Whitney

No.	Pembagian kelompok	N	P (Asymp. Sig)
1	Kontrol (-)	5	0,317
	40%	5	
2	Kontrol (-)	5	0,054
	60%	5	
3	Kontrol (-)	5	0,018
	80%	5	
4	Kontrol (-)	5	0,005
	100%	5	
5	Kontrol (+)	5	0,009
	100%	5	

Dari grafik dan data diatas maka dapat diketahui bahwa pada biakan I terdapat daya hambat yang dimulai dari konsentrasi ekstrak sebesar 40% dan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kadar konsentrasi ekstrak. Rerata diameter daya hambat tersebut secara berurutan dari konsentrasi ekstrak 40% hingga 100% adalah sebesar 41 mm; 45,6 mm; 51 mm dan 90,6 mm.

Data tersebut kemudian dianalisis pada $\alpha = 0,05$, dan diperoleh hasil sebagai berikut:

- Tes homogenitas varians
Hasil analisis menunjukkan Levene Test hitung = 9,120 ternyata memiliki $p(\text{sig}) = 0,000$
Oleh karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa varian yang ada adalah tidak homogen.
- Uji Anova
Dikarenakan varian data yang ada tidak homogen maka uji Anova tidak dapat dilakukan, karena salah satu syarat untuk dapat

dilakukannya uji Anova adalah varian harus bersifat homogen.

- Uji Non Parametri Kruskal-Wallis
Untuk menilai data secara statistik maka kemudian data diolah dengan uji Non Parametri Kruskal-Wallis. Pada uji ini didapatkan $p(\text{Asymp. Sig}) = 0,000$.
Oleh karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar varian data.
- Uji Non Parametri Mann-Whitney
Untuk mencari data mana yang berbeda secara bermakna maka dilakukan uji Non Parametri Mann-Whitney.

Pada uji yang dilakukan dengan pembandingan kontrol negatif (-) digunakan untuk menilai daya hambat antibakteri secara statistik. Didapatkan pada konsentrasi 80% nilai $p(\text{Asymp. Sig}) = 0,018$ dan pada konsentrasi 100% nilai $p = 0,005$. Kedua nilai p tersebut $< 0,05$ maka dapat disimpulkan

bahwa pada kedua konsentrasi tersebut memiliki daya hambat yang bermakna secara statistik.

Pada uji yang dilakukan dengan pembandingan kontrol positif (+) digunakan untuk menilai besarnya potensi daya hambat antibakteri. Didapatkan pada konsentrasi dengan daya hambat tertinggi memiliki p (Asymp. Sig) = 0,009. Oleh karena p < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa potensi daya hambat antibakteri ekstrak berbeda secara signifikan apabila dibandingkan dengan kontrol (+) yang berupa amoksisilin.

Perhitungan di atas menunjukkan bahwa

ekstrak etanol daun cocor bebek dengan kadar 80% dan 100% memiliki daya hambat yang bermakna secara statistik. Namun demikian apabila dibandingkan dengan amoksisilin sebagai kontrol (+) potensi daya hambat ekstrak etanol daun cocor bebek sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* masih jauh kurang efektif. Dalam hal ini berarti amoksisilin masih jauh lebih poten dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* bila dibandingkan daya hambat yang dihasilkan ekstrak etanol daun cocor bebek.

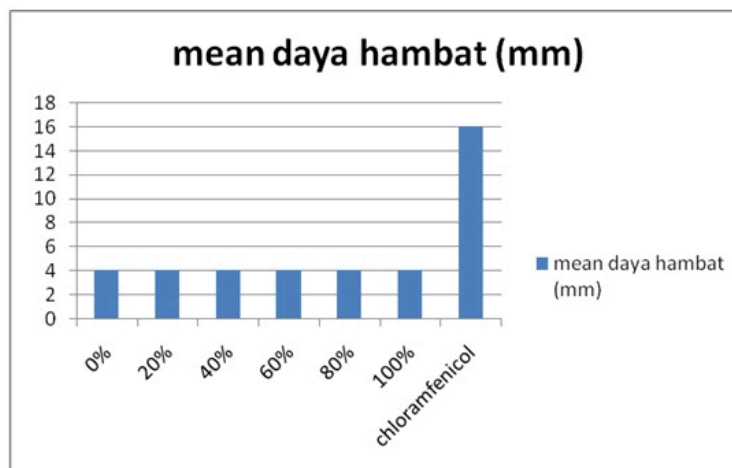
Hasil tes terhadap biakan *Escherichia coli*

Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Tabel 3: daya hambat antimikroba ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap *Escherichia coli* (mm)

Replikasi <i>Escherichia coli</i>	0%	20%	40%	60%	80%	100%	Kloramfenicol
1	4	4	4	4	4	4	19,6
2	4	4	4	4	4	4	15,7
3	4	4	4	4	4	4	11,8
4	4	4	4	4	4	4	17,0
5	4	4	4	4	4	4	16,3
Σ rata-rata	4	4	4	4	4	4	16,08

Grafik 2 : daya hambat antimikroba ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap *Escherichia coli* (mm)



Pada data yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan terhadap *Escherichia coli* dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dari konsentrasi 20% hingga konsentrasi 100% tidak memiliki daya hambat sama sekali terhadap biakan kuman *Escherichia coli*.

Dikarenakan semua data yang diperoleh memiliki rerata yang tidak berbeda dari rerata variabel pembanding (kontrol negatif) maka data tersebut tidak dilanjutkan dengan penilaian data secara statistik. Hal tersebut dikarenakan kesemua kadar ekstrak tidak memiliki daya hambat maupun potensi terhadap biakan kuman *Escherichia coli*.

Pembahasan

Telah dilakukan penelitian mengenai efek antibakteri ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 secara invitro. Pada grafik 1 dan 2 dapat dilihat gambaran dari diameter zona hambat pertumbuhan dalam berbagai konsentrasi dan reratanya. Untuk bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh zona hambat dengan diameter 4 mm (20%), 4 mm (40%), 4,1 mm (60%), 4,56 mm (80%) dan 9,06 mm (100%). Namun daya hambat tersebut tidaklah bermakna signifikan apabila dibandingkan diameter daya hambat yang dihasilkan amoksisilin sebagai kontrol positif. Untuk bakteri *Escherichia coli* dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan berbagai konsentrasi tidak memiliki daya hambat sama sekali.

Sebagai pembanding telah dilakukan percobaan dengan menggunakan metode sumuran dan *Pour Plate* dengan menggunakan ekstrak yang sama dengan konsentrasi yang sama pula yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Percobaan tersebut juga dilakukan baik terhadap biakan kuman *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 dan hasil yang diperoleh adalah terbentuk zona hambat dengan diameter 5,6 mm (60%), 7,2 mm (80%) dan 8,8 mm (100%) pada biakan *Staphylococcus aureus*, namun pada biakan *Escherichia coli* tetap tidak ditemukan zona hambat sama sekali.

Adanya potensi kadar hambat ekstrak yang tidak bermakna bagi *Staphylococcus aureus* dan bahkan tidak adanya hambatan sama sekali bagi *Escherichia coli* dimungkinkan karena berbagai kandungan kimia daun cocor bebek sebagian

besar ikut terambil termasuk bahan kimia yang bersifat antagonis sehingga kandungan kimia bahan yang diharapkan mampu bersifat bakteristatik ternetralkan. Hal ini didukung oleh adanya pernyataan yang menyatakan bahwa cara ekstraksi dengan menggunakan etanol akan lebih banyak mengabsorpsi bahan kimia aktif dari bahan (Ansel, 1988). Sedangkan zat aktif yang diduga memiliki daya antibakteri adalah *cinamic acid* yang menghambat sintesis protein mikroba, flavonoid dan alfatokoferol yang bekerja dengan menghambat metabolisme sel mikroba, serta *bufadienolide* yang bekerja dengan merusak asam nukleat mikroba.

Kemungkinan yang lainnya adalah sifat ekstrak itu sendiri yang tidak homogen, yaitu sebagian besar zat aktif ekstrak memiliki berat molekul (BM) tinggi sedangkan sebagian zat aktif ekstrak lainnya memiliki BM yang rendah. Hal tersebut tampak pada sifat ekstrak yang cepat mengendap apabila didiamkan. Hal ini menyebabkan tidak semua zat aktif terserap kedalam disk, karena hanya zat aktif yang berada di dasar tabung yang terserap kedalam disk saat proses perendaman berlangsung.

Adanya perbedaan dalam hal zona hambat yang dihasilkan antara bakteri *Staphylococcus aureus* gram (+) dengan bakteri *Escherichia coli* gram (-) dikarenakan adanya perbedaan komponen pada dinding sel kedua bakteri tersebut, dimana *Staphylococcus aureus* sebagai gram (+) memiliki 3 lapisan yaitu selaput sitoplasma, lapisan peptidoglikan yang tebal dan simpai, sedangkan *Escherichia coli* sebagai gram (-) memiliki lapisan yang lebih kompleks dan berlapis-lapis yaitu selaput sitoplasma, lapisan tunggal peptidoglikan, dan selaput luar yang terdiri dari lipoprotein dan lipopolisakarida. Selaput luar *Escherichia coli* sebagai gram (-) memiliki karakteristik yang unik dimana pada selaput itu bersifat menolak molekul hidrofobik sekaligus hidrofilik dengan baik namun di lain pihak selaput ini memiliki saluran khusus yang mengandung molekul protein yang disebut porin. Saluran tersebut memudahkan difusi pasif senyawa hidrofilik dengan BM rendah seperti gula dan asam amino, sedangkan molekul yang besar seperti molekul antibiotika dan termasuk juga molekul zat aktif ekstrak daun cocor bebek akan mengalami kesulitan bahkan gagal untuk menembusnya. Adanya perbedaan-perbedaan tersebut menyebabkan *Escherichia coli* sebagai gram (-) lebih bersifat resisten (Jawetz. et al, 2001).

Penelitian ini seirama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Siti Nur Hidayati dari Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan UMS tentang infusa daun cocor bebek yang memiliki daya hambat yang signifikan terhadap *Staphylococcus aureus* dari kadar infusa 20% - 100% namun tetap tidak signifikan bagi *Shigella dysenteriae*. Hanya saja dibandingkan daya hambat yang dihasilkan oleh infusa daun cocor bebek, daya hambat yang dihasilkan ekstrak etanol daun cocor bebek bersifat lebih rendah. Selain itu, dari penelitian yang telah dilakukan oleh B. Muthuvelan dan R. Balaji Raja yang dimuat dalam Jurnal Mikrobiologi dan Bioteknologi SpringerLink didapatkan bahwa ekstrak *diethyl ether* dari daun cocor bebek tidak memiliki daya hambat yang signifikan sedangkan pada ekstrak kloroform dan heksan dari daun cocor bebek sama sekali tidak memiliki daya hambat pada biakan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal tersebut menunjukkan bahwa daya antibakteri daun cocor bebek yang paling maksimal dapat diperoleh dari infusanya.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Dari hasil penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 secara *invitro*, maka dapat diambil simpulan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek dimulai dari kadar 40% - 100% terbukti memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* namun potensi antibakterinya tidak signifikan apabila dibandingkan dengan amoksisilin sebagai kontrol positifnya, sedangkan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ekstrak daun cocor bebek mulai dari kadar 20% - 100% sama sekali tidak memiliki daya hambat.

Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek daun cocor bebek terhadap biakan kuman lainnya dengan menggunakan cara ekstraksi yang berbeda.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap biakan kuman lainnya.
3. Perlu penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jenis ekstrak tumbuhan yang berbeda sehingga dapat diketahui ada tidaknya efek antibakteri pada kuman

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* tersebut.

Daftar Pustaka

- Almeida, A.P., Muzitano, M.F. et al. 2006. 1-octen-3-O-a-L-arabinopyranosyl-b-glucopyranoside, a minor substance from the leaves of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae). Rev. Bras. Farmacogn. 16 (4). <http://www.scielo.br>
- Ansel, H.C. 1988. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: UI press:607-15
- Atata, Alhassan Sani et al. 2003. *Effect of Stem Bark Extracts of Enantia chloranta on Some Clinical Isolates*. Department of Biological Sciences, University of Ilorin, Nigeria. <http://www.bioline.org.br>
- Bagian Mikrobiologi. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara: 104-63
- Bagian Mikrobiologi. 1997. *Mikrobiologi Kedokteran*. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta: Penerbit FKUGM
- Bonang, G., Koeswardono, E.S. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Gramedia: 107-109
- Dalimarta, Setiawan. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: PT. Niaga Swadaya: 139-42
- Da-Silva, S.A.G., Pinheiro, R.O. et al. 2008. *Chemical isolation of an apolar antileishmanial and lymphocyte-suppressive substance present in the plant Kalanchoe pinnata*. Instituto de Biofísica and Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais UFRJ. <http://www.memorias.ioc.fiocruz.br>
- Hariana, Arief. 2000. *Tumbuhan Obat & Khasiatnya*. Seri 3. Jakarta: PT. Niaga Swadaya: 94-5
- Hidayati, Siti Nur. 2006. *Uji Antibakteri Ekstrak Daun Cocor Bebek (Kalanchoe pinnata Pers) terhadap Staphylococcus aureus dan Shigella dysenteriae*. Skripsi. Pendidikan Biologi. FKIP UMS.
- Jawetz, Melnick, Adelberg, J.L. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 22. Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika: 15-23, 211-7, 234-48.
- Katno, Pramono S. 2008. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*. Jogjakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Lana, Ana. 2005. *Toksistas Fraksi Etil Asetat Daun Cocor Bebek Kalanchoe daigremontiana Hamet & Perrier*. <http://hpt.unpad>

- Lans, Cheryl A. 2006. *Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus*. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. <http://www.ethnobiomed.com>
- Levinson, Warren. 2004. *Medical Microbiology and Immunology Examination and Board Review*. 8th Edition. Philadelphia: A Lange Medical Books: 91-102, 115-32
- Muthuvelan, B., Raja, R. 2008. *Studies on the efficiency of different extraction procedures on the anti microbial activity of selected medicinal plants*. World J Microbiol Biotechnol 24: 283742. <http://www.springerlink.com>
- Ouellette, Robert J. 1998. *Organic Chemistry: A Brief Introduction*. 2nd edition. New Jersey : Prentice Hall: 239, 314-5, 380-3
- PDPERSI. 2003. *Obat Tradisional : Cocor bebek (Kalanchoe pinnata)*. <http://www.PDPERSI.CO.ID>
- Priyatno, Duwi. 2008. *Mandiri Belajar SPSS*. Jakarta: MediaKom
- Quelab. 2005. *Mc Farland Standart*. <http://www.quelab.com>
- Schunack, W., Mayer, K. et al. 1990. *Senyawa Obat Buku Pelajaran Kimia Farmasi*. Edisi 2 diperbarui. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press
- Setiabudy, R., Vincent, H.S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4 (dengan perbaikan). Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: 571-83
- Sugiyono, 2005. *Statistik untuk Penelitian*. Bandung: CV. Alfabeta
- Taylor, Leslie. 2005. *Database File for Kalanchoe*. <http://rain-tree.com>
- Tjitrosoepomo, Gembong. 1993. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press: 192-3
- United States Department of Agriculture., 1999. *Plants Profile : Kalanchoe pinnata*. <http://www.USDA.com> (4 Agustus 2008)
- Wijayakusuma, Hembing. 2001. *Atasi Asam Urat & Rematik ala Hembing*. Jakarta: PT. Niaga Swadaya: 45
- Willcox , Merlin L., Bodeker, G. *Traditional Herbal Medicines for Malaria*. <http://www.BMJ.com>