

POTENSI EKSTRAK GULMA DAUN KIRINYUH
(*Chromolaena odorata* (L) R.M King dan H. Robinson)
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP FITOPATOGEN
Xanthomonas campestris

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1
Program Studi Biologi



Disusun oleh
Diah Susanti
13640052

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2017



PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : B-1796/Un.02/D.ST/PP.05.3/05/2017

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : Potensi Ekstrak Gulma Daun Kiriuh (*Chromolaena odorata* (L) R.M King dan H.Robinson) sebagai Antibakteri terhadap Fitopatogen *Xanthomonas campestris*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Diah Susanti
NIM : 13640052
Telah dimunaqasyahkan pada : 29 Mei 2017
Nilai Munaqasyah : A -
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si
NIP.19791217 20091 2 004

Penguji I

Anti Damayanti H, S.Si, M.MolBio
NIP.19810522 200604 2 005

Penguji II

Dr. Arifah Khulsnuryani, M.Si.
NIP. 19750515 200003 2 001

Yogyakarta, 31 Mei 2017

UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan



Dr. H. Hartono, M.Si
NIP.19691212 200003 1 001

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi
Lamp : 4 Eksemplar skripsi

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

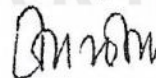
Nama : Diah Susanti
NIM : .13640052
Judul Skripsi : Potensi Ekstrak Gulma Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L) R.M King dan H. Robinson) Sebagai Antibakteri Terhadap Fitopatogen *Xanthomonas Campestris*.

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, Maret 2017
Pembimbing I



Erny Qurotul Ainy., M. Si
NIP. 197912172009012004



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi

Lamp : 4 Eksemplar skripsi

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Diah Susanti

NIM : .13640052

Judul Skripsi : Potensi Ekstrak Gulma Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M King dan H. Robinson) Sebagai Antibakteri Terhadap Fitopatogen *Xanthomonas Campestris*.

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, Maret 2017

Pembimbing II

Anti Damayanti H, S.Si.M.Mol.Bio

NIP. 19810522-200604-2-005

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diah Susanti
NIM : 13640052
Prodi/ Smt : Biologi/VIII
Fakultas : Sains dan Teknologi

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 02 Februari 2017



Diah Susanti
Diah Susanti
NIM: 13640052

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

MOTTO

**"Do More than What you have seen before , because Life is games
We play, We Lose and We Win"
(Budi Waluyo)**

"Man jadda wa jada"

**"DO THE BEST GET THE BEST FOR THE BEST"
(SHANS tea)**

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

PERSEMBAHAN

Ku persembahkan karya ini untuk

Agamaku,...

yang menjadi penuntun hidupku

Keluargaku,...

Bapak Samsudin dan Ibu Rusmiati yang senantiasa mendoakan dan rela meneteskan keringat di setiap harinya..

Almamaterku...

tempatku mengemban ilmu

dan....

*Seluruh rekan-rekan yang mengenalku
yang telah mengisi hari-hariku....*



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Syukur *Alhamdulillah* segala puji kami sanjungkan kepada Allah SWT yang telah memberikan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir (skripsi) dengan baik dan tepat waktu. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, dan sahabatnya. Tugas akhir ini merupakan hasil dari penelitian yang berisikan kajian ”Potensi Ekstrak Gulma Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L) R.M King dan H. Robinson) Sebagai Antibakteri Terhadap Fitopatogen *Xanthomonas campestris*”

Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk mencapai gelar sarjana sains pada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas atas bantuan, motivasi dan arahan berbagai pihak, baik langsung maupun tidak langsung. Penulis menyampaikan terimakasih dan penghargaan yang tidak terhingga kepada:

1. Bapak Dr. Murtono, M. Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Siti Aisah , M. Si., selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasinya dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Ibu Erny Qurotul Ainy, M. Si., selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta sekaligus dosen pembimbing I yang memberikan dukungan, koreksi dan arahan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
4. Ibu Anti Damayanti H, S.Si.M.Mol.Bio selaku dosen pembimbing II yang telah dengan sabar memberikan bimbingan.

5. Seluruh staff laboran mikrobiologi UIN Sunan Kalijaga, khususnya Mbak Ethik yang telah banyak membantu penulis dalam penelitian ini.
6. Ayah dan Ibu tercinta Samsudin dan Rusmiati, serta keluarga penulis yang telah memberikan dukungan dan do'a nya.
7. Sahabat-sahabat beserta keluarga "screet" Rini, Ira, Subkhan, dan Daus yang telah mengisi hari-hari penelitian dengan menyenangkan serta tak lupa Agus Taufik, Mas Biyan dan Mas Agil yang telah membantu peneliti selama penelitian.
8. Seluruh rekan mahasiswa/i program studi angkatan 2013 dan seluruh pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun tugas akhir ini masih banyak kekurangan dan kesalahan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga skripsi ini dapat sempurna. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Yogyakarta, 17 Mei 2017

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI PEMBIMBING I	iii
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI PEMBIMBING II	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar belakang masalah.....	1
B. Rumusan masalah	4
C. Tujuan penelitian	4
D. Manfaat penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Karakteristik Tanaman <i>Chromolaena odorata</i> (L.) R. M. King dan H. Robinson	6
B. Metabolit Sekunder.....	9
C. Ekstraksi Metabolit Sekunder	14
D. <i>Xanthomonas campestris</i> sebagai bakteri uji	17
E. Antibakteri	18
F. Mekanisme Kerja Antibakteri.....	20
G. Kromatografi Lapis Tipis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN	25
A. Waktu dan Tempat Penelitian	25
B. Alat dan Bahan.....	25
C. Prosedur Penelitian	26

BAB IV PEMBAHASAN	31
A. Hasil	31
1. Ekstraksi Gulma Daun Kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> (L) R.M King dan H. Robinson).....	31
2. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Gulma Daun Kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> (L) R.M King dan H. Robinson)	32
3. Mekanisme Penghambatan (Pengaruh ekstrak etanol dan <i>n</i> -heksana gulma kirinyuh terhadap kerusakan sel).....	34
4. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol dan <i>n</i> -heksana Gulma Kirinyuh terhadap Kerusakan Sel	36
B. Pembahasan.....	37
BAB V PENUTUP	45
A. Kesimpulan	45
B. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman kirinyuh	8
Gambar 2. Beberapa contoh alkaloid.....	11
Gambar 3. Beberapa pembagian kelas flavonoid	12
Gambar 4. Struktur inti tanin	13
Gambar 5. Beberapa contoh struktur turunan dari saponin	13
Gambar 6. Beberapa contoh struktur turunan dari terpenoid.....	14
Gambar 7. Cara menghitung zona hambat.....	29
Gambar 8. Histogram uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan <i>n</i> -heksana daun kirinyuh terhadap bakteri <i>Xanthomonas campestris</i>	33
Gambar 9. Histogram absorbansi asam nukleat dan protein bakteri <i>Xanthomonas campestris</i> dengan perlakuan ekstrak etanol yang terukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.....	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pengukuran parameter lingkungan	31
Tabel 2. Hasil ekstraksi gulma daun kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i>) dengan pelarut etanol dan <i>n</i> -heksana.....	32
Tabel 3. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan <i>n</i> -heksana daun kirinyuh terhadap bakteri <i>Xanthomonas campestris</i>	33
Tabel 4. Absorbansi untuk deteksi komponen asam nukleat dan protein bakteri <i>Xanthomonas campestris</i> yang terukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.....	34
Tabel 5. Hasil perhitungan sel <i>X. campestris</i> yang viabel pasca penambahan ekstrak kirinyuh pada konsentrasi yang berbeda.....	35
Tabel 6. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak gulma daun kirinyuh.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil uji KHM ekstrak etanol dan <i>n</i> -heksana daun gulma kirinyuh	54
Lampiran 2. Kontrol positif (streptomisin sulfat) kiri, kontrol negatif (akuades) kanan.....	54
Lampiran 3. Ekstrak etanol (kiri) dan <i>n</i> -heksana(kanan) yang akan di spektrofotometri	55
Lampiran 4. Hasil uji KLT ekstrak <i>n</i> -heksana dan etanol	55
Lampiran 5. Proses uji KLT dengan pelarut etanol (a) dan <i>n</i> -heksana (b)	55
Lampiran 6. Diagram alir pembuatan ekstrak.....	56
Lampiran 7. Diagram alir uji kebocoran sel	57
Lampiran 8. Diagram alir uji aktivitas antibakteri.....	58
Lampiran 9. Hasil pengujian sel viabel setelah pemberian ekstrak daun kirinyuh.....	59



Potensi Ekstrak Gulma Daun Kirinyuh
(*Chromolaena odorata* (L) R.M King dan H. Robinson)
Sebagai Antibakteri Terhadap Fitopatogen
***Xanthomonas Campestris*.**

Oleh :
Diah Susanti
13640052

ABSTRAK

Resistensi bakteri terhadap pestisida sintetik merupakan masalah yang sedang dihadapi baik di negara berkembang maupun maju. Oleh karena itu dibutuhkan upaya untuk mengurangi masalah tersebut, salah satunya dengan penemuan biopestisida yang berasal dari bahan alam yakni tanaman kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L) R.M King dan H. Robinson) Kirinyuh merupakan jenis gulma berdaun lebar yang memiliki adaptasi yang tinggi dan keberadaannya cukup melimpah.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi ekstrak gulma daun kirinyuh sebagai antibakteri terhadap fitopatogen *Xanthomonas campestris* serta mengetahui kandungan metabolit sekundernya. Ekstraksi metabolit sekunder daun gulma kirinyuh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dan *n*-heksana. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi, sedangkan mekanisme kerusakan sel menggunakan spektrofotometer. Identifikasi senyawa aktifnya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis.

Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan *n*-heksana daun gulma kirinyuh memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *X.campestris*. Nilai KHM ekstrak etanol dan *n*-heksana sama besar yakni 14,33 mm. Hasil uji kebocoran sel dan protein menunjukkan bahwa telah terjadi kebocoran asam nukleat dan protein pada bakteri *X.campestris*. Peningkatan kebocoran asam nukleat dan protein selaras dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan. Berdasarkan identifikasi metabolit sekunder daun gulma kirinyuh memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid, terpen dan alkaloid.

Kata kunci: *Chromolaena odorata*, *Xanthomonas campestris*, antibakteri.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri *Xanthomonas campestris* adalah bakteri fitopatogen yang menyebabkan penyakit *black rot* atau busuk hitam pada beberapa tanaman budidaya, seperti tanaman tomat (*Solanum lycopersium*), jeruk (*Citrus aurantifolia*), padi (*Oryza sativa*) dan sawi putih (*Brassica juncea*). Infeksi tanaman oleh bakteri gram negatif ini menyebabkan terjadinya bercak cokelat kehitam-hitaman pada daun, batang, tangkai bunga (Wulansari, 2015) dan biji (Kol & Wolf, 2005). Selain itu, *X. campestris* mudah ditemukan di tanah (Soudi *et al.*, 2011).

Secara umum infeksi yang disebabkan oleh bakteri *X. campestris* dapat diantisipasi dengan menggunakan pestisida sintetis (Ashutosh, 2008). Pemilihan penggunaan pestisida sintetis memiliki keunggulan dalam segi waktu, ekonomis dan mudah diperoleh. Akan tetapi, penggunaan pestisida sintetis menimbulkan masalah berupa kerusakan lingkungan karena sifat pestisida yang *non biodegradable* (Lohner & Austria, 2001). Di sisi lain, penggunaan pestisida sintetis mengakibatkan resistensi pada beberapa bakteri patogen, menghilangkan organisme non target dan dapat menyebabkan keracunan bagi petani (Stangarlin *et al.*, 2011). Oleh karena itu, perlu adanya metode alternatif yang lebih efektif untuk menangani permasalahan infeksi *X. campestris* tanpa menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan.

Penggunaan senyawa-senyawa aktif dari ekstrak tumbuhan merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi infeksi *X. campestris*. Menurut Wilson (2004), tumbuhan memiliki senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antibiotik sehingga eksplorasi terhadap senyawa-senyawa aktif tersebut memiliki relevansi yang besar terhadap penemuan-penemuan antibiotik baru untuk mengatasi resistensi pada tumbuhan itu sendiri. Selain itu penggunaan bahan alami tumbuhan dalam jangka panjang diharapkan lebih aman untuk organisme maupun lingkungan.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber senyawa aktif yang bersifat antibakteri adalah kirinyuh (*Chomolaena odorata* (L) R.M King dan H. Robinson). Tanaman ini merupakan gulma berdaun lebar yang berasal dari Amerika Selatan. Di Indonesia kirinyuh tumbuh dengan baik pada ketinggian 200-1800 mdpl. Secara ekologi kirinyuh dianggap sebagai tumbuhan pengganggu di tanah yang kurang subur dan dijumpai dalam jumlah yang cukup banyak (Graige & Ahmed, 1998 dalam Hadi, 2008). Gulma kirinyuh mempunyai kemampuan adaptasi yang tinggi. Umumnya tumbuhan tersebut jarang diserang oleh hama dan mempunyai karakteristik rasa pahit karena mengandung senyawa alkaloid dan terpen. Kirinyuh juga efektif sebagai herbisida maupun obat luka (Krestini *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kigigha dan Zige (2013) diketahui bahwa ekstrak daun kirinyuh berpotensi menghambat pertumbuhan beberapa bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*

aureus. Penelitian oleh Stanley *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kirinyuh memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E.coli*, dan *Candida albicans*. Menurut Hadi *et al.*, (2000) bahwa dalam ekstrak daun *C. odorata* terdapat 66% senyawa monoterpen dan 28% sesquiterpene. Pada penelitian sebelumnya, Harto (1998) menyatakan kandungan sesquiterpene efektif terhadap mortalitas rayap. Selain itu kirinyuh juga mengandung 11-17% *alfa-pinene*, 12,5%-24,8% *cymene*, serta 10,6% *thynyl acetate*, fenol, triterpenoid, alkaloid dan steroid (Hadi, 2008). Harborne (2006) menyatakan bahwa senyawa alkaloid dan terpen pada tumbuhan merupakan bahan aktif sebagai pengendali hama. Senyawa alkaloid dan terpenoid berpotensi mengganggu aktivitas enzim pencernaan dan bersifat toksik pada tubuh suatu organisme seperti serangga (Krestini *et al.*, 2011).

Senyawa aktif pada tanaman kirinyuh dapat diperoleh dengan proses ekstraksi. Keberhasilan suatu ekstraksi dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti waktu dan suhu ketika ekstraksi, ukuran bahan, perbandingan jumlah sampel terhadap jumlah cairan pengekstraksi, dan jenis cairan pengekstraksi itu sendiri atau pelarut. Optimasi perolehan senyawa aktif tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kelarutan yang berbeda, yakni pelarut polar seperti etanol dan pelarut non polar seperti *n*-heksana. Pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang tinggi dengan indeks polaritas 3,10, sehingga diharapkan mampu menarik senyawa polar pada daun kirinyuh. Pelarut *n*-heksana

merupakan pelarut non polar yang memiliki indeks polaritas 0,1 sehingga diharapkan senyawa aktif yang bersifat non polar dari daun kirinyuh dapat terekstrak. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi ekstrak daun kirinyuh sebagai antibakteri terhadap fitopatogen *X. campestris*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan sebelumnya, rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah:

1. Berapakah dosis minimum ekstrak daun kirinyuh yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun kirinyuh dengan pelarut *n*-heksana dan etanol terhadap sel *X. campestris* ?
3. Senyawa aktif apa yang terdapat pada ekstrak daun kirinyuh berdasarkan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)?

C. Tujuan Penelitian

1. Menentukan dosis minimum ekstrak daun kirinyuh yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kirinyuh dengan pelarut *n*-heksana dan etanol terhadap sel *X. campestris*.
3. Mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun kirinyuh dengan uji KLT yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *X. campestris*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi untuk mengembangkan bahan alam khususnya gulma kirinyuh sebagai alternatif antibakteri, sehingga penelitian tanaman gulma semakin berkembang yang nantinya masyarakat semakin termotivasi untuk memanfaatkan gulma kirinyuh.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 5% merupakan dosis minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* pada kisaran yang diujikan dalam penelitian ini.
2. Ekstrak etanol dan *n*-heksana mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* dengan merusak membran ditandai dengan adanya tingkat kebocoran asam nukleat dan protein.
3. Daun gulma kirinyuh mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, fenol dan terpenoid. Keempat senyawa tersebut mempunyai kemampuan sebagai antibakteri.

B. Saran

Penelitian ini merupakan tahap awal dalam mengeksplorasi keilmuan tentang tanaman kirinyuh yang hanya sebatas mengetahui potensi yang dimiliki daunnya sebagai antibakteri. Perlu dilakukan uji ekstrak gulma kirinyuh dengan konsentrasi di bawah 5% pada bagian selain daun yakni bisa batang maupun akarnya untuk mengetahui potensi antibakterinya. Selain itu perlu dilakukan uji lanjutan analisis mekanisme penghambatan aktivitas antibakteri yang lain seperti pengamatan SEM, uji kebocoran ion-ion, dan uji hidrofobitas sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. (1997). *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan* Yogyakarta: ANDI, hlm.2, 9, 14,17-18,21.
- Ahmad, I., Aqil, F., & Owais, M. (2006). *Modern Phytomedicine: Turning Medical Plants Into Drugs*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim.
- Asriani., Laksmi, B.S., Yasni, S., & Sudirman. (2007). Mekanisme Antibakteri Metabolit Lb. Plantarum kik dan Monoasil Gliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*. Vol. XVIII No. 2
- Asuthoh, K. (2008). *Pharmaceutical Microbiology*. New Age International (P) Ltd: New Delhi.
- Ayyanar, M., & Ignacimuthu, S. (2009). Herbal medicines for wound healing among tribal people in Southern India: Ethnobotanical and Scientific evidences. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 2009; 2(3): 29-42.
- Backer, A & Brink, V. N. B. (1965). *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Volume 1, N. V. P. The Netherlands, Noordhoof-Groningen.
- Belotti, G., Marco B., Benedetta D. C., Paolo D. F., & Marco S. (2013). Effect of Nitrogen and Phosphorus Starvations on *Chlorella vulgaris* Lipids Productivity and Quality under Different Trophic Regimens for Biodiesel Production. *American Journal of Plant Sciences*. 4
- Bernasconi, G. (1995). *Teknologi Kimia*. Jilid 2, edisi pertama. PT Pradaya Paramita: Jakarta.
- Betty, S., Miksusanti., Bambang, P., & Gatot, T. (2008). *Berita Biologi*. Kerusakan Dinding Sel *E. Coli* KI.1 oleh Minyak Atsiri Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*). Universitas Sriwijaya, hlm: 6
- Bibiana, W. L., Anas M. F., Santosa, D.A., & Sastrawidana, I. D., (2008). Pengolahan limbah limbah tekstil sistem kombinasi anaerobik-aerobik menggunakan biofilm bakteri konsorsium dari lumpur tekstil. *Jurnal Ecotrophic*. 3(2): 55-60
- Brock, T. D., & Madigan, M.T. (2003). *Biology of Microorganism*. Sixth edition. Prentice Hall International: Mexico.
- Brown, A. E. (2007). *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology* (Tenth Edition). New York. McGraw-Hill.
- Bunduki, M.M.C., Flander, K.J., & Donnelly, C.W. (1995). Metabolic and structural sites of damage in heat and sanitizer-inured population of listeria monocytogenes. *Jurnal Food Protect*. 58: 410-415.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2013). *Manual Laboratorium Biologi*. Jakarta: EGC.

- Chia, M.L., Preston, J.K & Wes, C.L. (2000). Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *Journal of Food Protection*, 63 (6):727-734.
- Crock, M.J.W. (1984). Possibilities for Biological Control of *Chromolaena odorata* Tropical Pest Management 30(1): 7-13.
- Davis, W.W & Stout, T.R. (1971). Disc Plate Methods of Microbial Antibiotic Assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Dawson, C.W, Rickinson, A.B., & Yaoung, L.S. (1990). Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein Inhibits Human Epithelial Cell Differentiation. *Nature* ;344:777- 80
- Dewi, F.K. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi Jurusan Biologi FMIPA*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition. Wiltshire: John Wiley & Sons Ltd.
- Doughari, J.H., (2012). Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents, dalam D.V. Rao, (Ed.) *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, 16, InTech, Croatia
- FAO. (2006). *Alien Invasive Species: Impacts on Forests and Forestry - A Review*. <http://www.fao.org/docrep/008/> Diakses 13 Agustus 2016
- Fessenden, R. J., & Fessenden, J. S. (1986). *Kimia Organik (Edisi Ketiga)*. Jakarta: Erlangga.
- Francis, J.K. (2004). *Chromolaena odorata* (L) King dan Robinson. <http://www/fs.fed.us/global/iitf/pdf/shrubs/chromolaena%20odoratum.pdf> Diakses 13 Agustus 2016)
- Frazier, F., & Westhoff. (1998). *Food Microbiology*. Tata Mc Graw Hills Pub. Co Limited: New York.
- Graige, M., & Ahmed, S. (1988). *Hand book of Plant with Pest Control Properties*. John Willey & Sons. Singapore.
- Gomashe, A.V., Gulhane, P.A., & Bezalwar, P.M. (2013). Isolation and screening of cellulose degrading microbes from nagpur region soil. *Int. J. of Life Science*, 2013, vol 1(4): 291-293
- Hadi, M. (2008). Pembuatan Kertas Anti Rayap Ramah Lingkungan dengan Memanfaatkan Ekstrak Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum*). *Bioma*: Vol 6 No 2 hal 12-18

- Hadi, M., Hidayat, J.W. K., & Baskoro. (2000). Uji Potensi Ekstrak Daun *Eupatorium odoratum* sebagai Bahan Insektisida Alternatif: Toksisitas Efek Antimakan Terhadap Larva *Heliothis armigera hubner*. Jurnal Sains dan Matematika Fakultas MIPA UNDIP. Semarang.
- Hajnos, M.W., & Joseph, S. (2011). High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Harborne, J.B. (2006). *Metode Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan* Ed ke-3. Bandung (ID): ITB
- Hardjono, S. (2007). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Hargono, D., & Farouq. (1986). *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Harto, S. (1998). Toksisitas Ekstrak Akar dan Daun Paitan (*Tithonia diversivolia* Gray) dan Pengaruhnya terhadap Mortalitas serta Aktivitas Makan Anti Rayap Tanah (*Coptotermos* sp.) di Laboratorium. Skripsi Fakultas MIPA UNDIP. Semarang
- Heat, H.B., & Reineccius, G. (1987). *Flavour Chemistry and Technology*. Von Nostrand Reinhold co. New York.
- Herbert, R.B. (1995). *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Bambang Srigandono, penerjemah. Edisi kedua. Semarang: IKIP Press. Terjemahan dari: *The Biosynthesis of Secondary Metabolism*.
- Hidayat, D. (2000). Pemanfaatan Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) untuk Media Semai *Gmelina arborea*. Skripsi Fakultas Kehutanan . Institut Pertanian Bogor.
- Holm, L.G., D.L. Plucknett, J.V Pancho & J.P. herberger. (1977). *The World's Worst Weeds. Distribution and Biology*. The University Press of Hawaii Honolulu.
- Husein, H.B. (1998). *Teknik Pemisahan Kimia dan Fisika*. Ganeca: Jakarta.
- Irianto, K. (2006). *Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganism* Jilid 1. CV. Yrama Widya: Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J., & Adelberg .(2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., & Melnick, J. (2010). *Review of Medical Microbiology* 15th edition. California, Lange Medical Publication.
- Juliantina, F., Dewa, A., Bunga, N., Titis., & Endrawati, T. (2011). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. Kigigha, L., Zige, A.V. 2013. *Activity of Chromolaena odorata on Enteric and Superficila Etiologic Bacterial Agents*. American Jurnal of Research Communication. Vol 1(11).

- Karlina., C.Y., Ibrahim, M., & Trimulyono., G. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal LenteraBio. FMIPA Universitas Negeri Surabaya.
- Kigigha, L. T., & Zige, D. V. (2013). Activity of chromolaena odorata on enteric and superficial etiologic bacterial agents. *American Journal of Research Communocation*, 2013, 1(11):266-276. Nigeria
- Kim, J.M., Marshal, M.R., & Wei, C.I. (1995). Antibacterial activity of some essential components against five food pathogens. *J.Agric. and Food Chem.* 43:2839-2845.
- Kimball, J.W. (1983). *Biologi jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Kohl, J., & Wolf, J. M. (2005). *Alternaria brassicicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in organic seed production of *Brassicae*: Epidemiology and seed infection. Note 363. Plant Research International. Wageningen.
- Krestini, E.H., Setiawati, W., & Sulastrini. (2011). Pengaruh Ekstrak Tumbuhan Babadotan (*Ageratum conyzoides*) Kirinyuh (*Eupatorium odoratum*) dan Tagetes (*Tagetes erecta*) Terhadap Mortalitas Hama Myzus Pesicae, Trialeurodes Vaporariorum, dan Predator Kumbang *Cocci menochillus Sexmaculatus*. Bandung.: Balai Penelitian Tanaman Sayuran Lembang
- Kusmayati & Agustini, N. W. R. (2007). Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53
- Kusuma, S.A.F. (2009). *Staphylococcus aureus*. (dalam: Setiabudy, R. . Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. Jakarta:Gaya Baru. hal. 571-576). Makalah Fakultas Farmasi. Univ. Padjajaran: Bandung.
- Lalitha. (2004). *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Tamil Nadu: Departement of Microbiology, hlm.10
- Lin, C.M., James, F.P., & Chang, I.W. (2000). Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *J. of Food Protect.* 61:727-734
- Lohner, K. & Austria, G. (2001). *Development of Novel Antimicrobial Agent: Emerging Strategies*. England: Horizon Scientific Press
- Lumempouw, L.I., Suryanto, E., & Paendong, J.J.E. (2012). Aktivitas Anti UV-B Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE* 1:1, 1-4.
- Maleki, S., Seyyednejad, S.M., Damabi, M.N., & Motamedi, H. (2008). Antibacterial activity of the fruits of Iranian torilis leptophylla against some clinical pathogens. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11(9): 1286-1289.
- Middleton, E., Kaswadi, C., & Theoharides, T.C. (2000). The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer. *The*

American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, pharmacol Rev 52: 673-751.

- Mufid, K. (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (ten) steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi*. UIN Malang.
- Muniappan, R & Mauritani. (2003). Ecology and Distribution of *Chromolaena Odorata* in Asia and Pasific. Proceeding of The First International Workshop *Chromolaena odorata*. <http://www.cpitt.eq.au/chromolaena/1/asia.htm>. Diakses 23 Desember 2016
- Mursyidi, A., Haryadi, & Anwar, C. (1989). *Analisi Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi. Universitas gajah mada, hlm 1-4, 6, 12, 174-175.
- Naim, R. (2004). Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan. FKH dan Sekolah Pascasarjana. IPB. Diakses tanggal 10 Februari 2016.
- Naufalin, R. (2005). Kajian sifat antimikroba ekstrak bunga kecombarang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai mikroba pathogen dan perusak pangan. *Disertasi Sekolah Pasca Sarjana*. IPB
- Nurasiah, S.E. (2010). Pengoptimaln Ekstraksi *Androgrfolida* dari Sambiloto dengan Rancangan Fraksional Faktorial. Departemen kimia. FMIPA IPB: Bogor
- Nurlailasari, F. (2011). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksana dan Etanol dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Daging Buah Putih, Pepaya (*Carica papaya*) dan Sambiloto (*Andrographits paniculata* Ness) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 35218. *Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi*. UIN Sunan Kalijaga.
- Nwinuka, N., Nwiloh, B., & Eresama, J. (2009). Nutritional and potential medicinal value of *chromolaena odorata* leaves. *Int. J. Tropical Agric. and Food Systems* : Vol 3, No 2.
- Nycas., & Tassou. (2002). Traditional preservatives-oiland spices. *Encyclopedia of Food Microbiology Volume I*. Academy Press London.
- Ochoa, g., Santos V.E., Cassac J.A., Gomez E. (2000). Xanthan gum: production recovery, and properties. *Biotechnology Adv*, 2000 Nov 1: 18(7):549-79.
- Parekh, J., Jadeja, D., & Chanda, S. (2005). Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turk J Biol* 29, 203–210.
- Parhusip, A. (2006). Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap Bakteri Pathogen Pangan. *Disertasi Sekolah Pasca Sarjana*. Institut Pertanian Bogor.

- Pelczar., M.J, & Chan., E.C.S. (2010). Dasar-Dasar Mikrobiologi. Volume ke-1,2. Hadioetomo RS, Imas T, Tijrosomo SS, Angka SL, penerjemah. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari : *Elemen OF Microbiology*.
- Pendit, P. A., Elok., Z., & Feronika., H. S. (2016). Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1)
- Pieta, P.G. (2000). *Flavonoids as Anti-oxidant*. J. Nat. Prod. G3, 1043-1046.
- Prahastiwi, R.D. (2014). E fek Ekstrak Daun Sirih Merah terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillu scereus* ATCC 13745 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022 Serta Mekanisme Penghambatannya. Program studi Biologi. UIN SUKA : Yogyakarta
- Prasad, C. S., Gowda, N. K. S. (2005). Dietary leveland plasma concentration of micronutrients in crossbred dairy cows fed finger millet and rice straw as dry roughage source. *Indian J.dairy Sci* 58(2): 109-112
- Pratiwi S.I., (2008). Aktivitas Antibakteri Tepung Daun Jarak (*jatropha curcas L.*) pada Berbagai Bakteri Saluran Pencernaan Ayam Broiller Secara In Vitro. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Bogor. Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Pratiwi, I. (2009). Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypa indica* terhadap Bakteri *Salmonella choleraesius* dan *Salmonella typhimurium*. Skripsi . jurusan biologi FMIPA . UNS. Surakarta.
- Prawiradiputra, B.R. (2007). Kirinyuh (*Chromolaena odorata (L) King dan Robinson*): Gulma Padang Rumput yang Merugikan. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Priyanto. (2008). *Farmakemoterapi dan Terminologi Medis*. Depok: Leksonfi. Hlm. 157
- Rahardja., Kirana, T., & Hoan, T. (2007). *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya Edisi Keenam*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Rahmawati, A. (2004). Respon Pemerian *Chromolaena odorata (L) King dan Robinson* dengan Pemulsaan dan Pembenaman terhadap Produksi dan Pertumbuhan Legum *Desmodium rensonii*. *Skripsi Departemen Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak*. Intsitut Pertanian Bogor.
- Robinson. (1995). Phyto-chemistry in plants. Di dalam: Naidu AS. *Natural Food Mycrobial Food System*. CRC Press: USA
- Sa'dah, Halang, B., & Zaini, M. (2010). Pengaruh Pemberian Campuran Lumpur Pengolahan Limbah Karet dan Media Tanah terhadap Kandungan Cadmium (Cd) Tanaman Selada (*lactuca sativa*). *Jurnal Wahana-Bio Volume III*.
- Sampurno. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta: 3-4, 10-12, 13-19.

- Sastrohamidjojo. (1996). *Sintesis Bahan Alam*. Cetakan Pertama, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press
- Schlegel, H.G. & Karin S. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Diterjemahkan oleh Tedjo Baskoro. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Schlegel, H.S., & Schmid, T. K. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Ed ke 6. Terjemahan Tedjo Baskoro. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Semangun, H. (2001). *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Soudi, M. R., Alimadadi, N., & Ghadam, P. (2011). Minimal Phenotypic Test for Simple Differentiation of *Xanthomonas campestris* from other yellow-pigmented bacteria Isolated From Soil. *Irian Journal of Microbiology*. 3 (2), 84 – 91.
- Stangarlin, J.R., Kuhn., & Assi L., (2011). *Control of Plant Disease Using Extracts From Medicinal and Fungi*. Science Against Microbial Pathogenic: Communication Current Research and Technological Advances.
- Stanley, M.C., Ifeanyi, O.E., Nwakaego, C.C., & Esther, I.O. (2014). *Antimicrobial effects of chromolaena odorata on some human pathogens*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* (2014) 3(3):1006-1012
- Sukadana, I.M. (2010). Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid Dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica* Burm F). *Jurnal Kimia* .4.63-70
- Suksamran, S., Suwannapoch, N., Phakhodee, W., Thanuhiranlert, J., Ratananukul, P., Chimnoi, N., & Suksamrarn, A. (2001). “Antimycobacterial Activity of Prenylated Xanthenes from the Fruits of *Garcinia mangostana*”, *Chem. Pharm. Bull.*, 51 (7), 857–859.
- Sulistiyani, N. & Kumalasari, E. (2011). Aktivitas ekstrak etanol batang binahong (*Anredera cordifolia*(Tenorer) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia.
- Swings, J. G., & Civerolo, E. L. (1993). *Xanthomonas*. Hong Kong. Springer Science & Business Media Dordrecht.
- Tina, R. (2007). Uji Aktivitas Hasil Penyaringan Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Beberapa Penyebab Infeksi Kulit. *Skripsi Fakultas Farmasi*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Tjitrosoedirdjo, S., Sri, S., & Umaly, R.C. (2003). The status of *Chromolaena odorata* (L) King and H. Robinson in Indonesia, *Proceeding: Second International Workshop on Biological Control of Chromolaena odorata* (L) King and H. Robinson. <http://www.cpitt.eq.edu.au/chromolaena/2/2umaly.html> Diakses 23 Desember 2016

- Verpoorte, R.A.W. & Alferman. (2000). *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Springer: 1-3 pp
- Vital, P .G., & Windell., L .R. (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*; 3(7): 511-518.
- Voight, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Terjemahan oleh S. Noerono. UGM Press: Yogyakarta.
- Waluyo, L. (2007). *Mikrobiologi Umum*. UPT Universitas Muhammadiyah Malang: Malang
- Widodo, W. (2005). *Tanaman Beracun dalam Kehidupan Ternak*. Malang. UMM Press
- Wilson, G. (2004). *Textbook of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistri*, edisi kesebelas. Lippincott Williams & Wilkins: New York
- Wink, M. (2008). Ecological Roles of Alkaloids, dalam Wink, M., *Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthetis and Biology*, Wiley: Jerman.
- Wulansari, N.T. (2015). Upaya Pengendalian Penyebab Busuk Hitam pada Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) dengan Antagonisnya. Tesis. Program magister pascasarjana. Universitas Udayana.
- Yadav, A.S. & R.S. Tripathi. (1981). Population Dynamic of The Ruderal Weed *Eupatorium odoratum* and Its Natural Regulation. *Oikos* No. 36. Copenhagen.
- Zakaria, Z.A., Zaiton, H., Henie, E.F.P., Mat., J, AM., & Engku., Z. E.N.H. (2007). In vitro antibacterial activity of *averrhoa bilimbi* l., leaves and fruits extracts. *Int. Journal of Tropical Medicine* 2:3, 96–100.