

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK METANOL  
DAUN TEH-TEHAN (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) DAN FRAKSI-  
FRAKSINYA**



**SKRIPSI**

**M. AL HILAL KHAMDI  
1908010121**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO  
JULI 2023**

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK METANOL  
DAUN TEH-TEHAN (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) DAN FRAKSI-  
FRAKSINYA**



**SKRIPSI**

Diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**M. AL HILAL KHAMDI  
1908010121**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO  
JULI 2023**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK METANOL  
DAUN TEH-TEHAN (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) DAN FRAKSI-  
FRAKSINYA**

**M. Ai Hilal Khamdi**

**1908010121**

**Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk dipertahankan dalam  
sidang skripsi**



**Pembimbing I**



**apt. Shintia Lintang Charisma, M. Farm**  
**NIK. 2160734**

**Pembimbing II**



**Dr. apt. Retno Wahyuningrum, M.Si**  
**NIK. 2160387**

## HALAMAN PENGESAHAN

### AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK METANOL DAUN TEH-TEHAN (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) DAN FRAKSI- FRAKSINYA



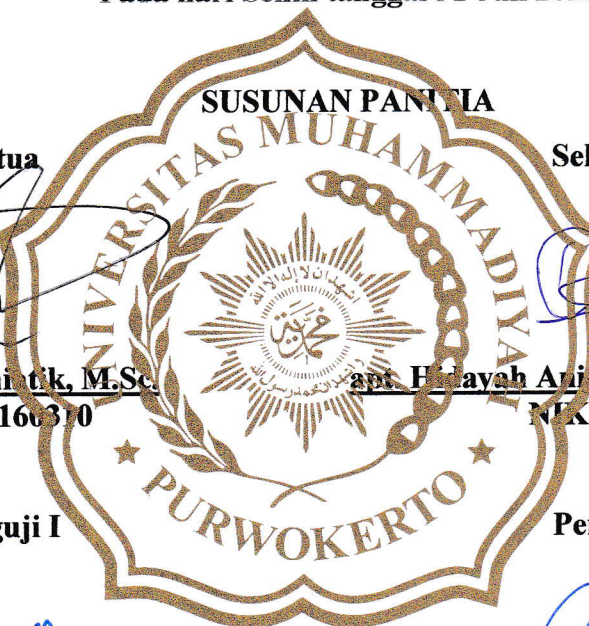

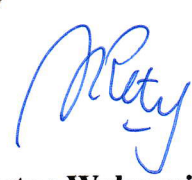
**M. Al Hilal Khamdi**

**1908010121**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi

Pada hari Senin tanggal 31 Juli 2023

**SUSUNAN PANITIA**

<b>Ketua</b>		<b>Sekretaris</b>	
<b>Dr. apt. Diniatik, M.Sc.</b> NIK. 2160370		<b>apt. Hayah Anisa Fitri, M. Pharm. Sci</b> NIK. 2160883	
<b>Penguji I</b>		<b>Penguji II</b>	
			
<b>apt. Shintia Lintang Charisma, M. Farm</b> NIK. 2160734		<b>Dr. apt. Retno Wahyuningrum, M.Si</b> NIK. 2160387	

**Mengetahui**  
**Dekan Fakultas Farmasi**  
**Universitas Muhammadiyah Purwokerto**



**apt. Didik Setiawan, M.Sc., Ph.D.**  
NIK. 2160393

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Al Hilal Khamdi

NIM : 1908010121

Program Studi : Sarjana Farmasi

Fakultas : Farmasi

Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto,

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar serta bukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila kelak dikemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 15 Juli 2023

Yang membuat pernyataan



M. Al Hilal Khamdi

1908010121

## MOTTO

“Nama dengan gelar memang penting, namun keberkahan ilmu dan ridho guru tidak tertanding”



## **PERSEMBAHAN**

Alhamdulillah, saya panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan ridhonya saya dapat menyelesaikan karya ini. Sholawat serta salam tidak lupa juga saya panjatkan kepada Nabi Muhammad SAW. Karya ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya, Bapak Rosul dan Ibu Wasiyati yang telah memberikan segalanya.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Teh-Tehan (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) dan Fraksi Fraksinya. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Dr. Jebul Suroso, S.Kp., Ns. M.Kep selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto
2. apt. Didik Setiawan, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Farmasi yang telah memberi berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi;
3. Dr. apt. Retno Wahyuningrum, M.Si selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi dan dosen pembimbing yang telah memberi berbagai informasi dan menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan skripsi ini;
4. apt. Shintia Lintang Charisma, M.Farm selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan skripsi ini;
5. Dr. apt. Diniatik, M.Sc yang telah memberikan berbagai pertanyaan untuk menguji kelayakan sebagai sarjana Farmasi
6. apt. Hidayah Anisa Fitri, M. Pharm. Sci yang telah memberikan berbagai pertanyaan untuk menguji kelayakan sebagai sarjana Farmasi;
7. Bapak dan ibu laboran yang dengan ikhlas mau direpotkan;
8. Segenap sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Purwokerto umumnya dan segenap sivitas akademika Fakultas Farmasi UMP khususnya yang telah memberikan ilmunya dengan ikhlas dan ridho sehingga bisa bermanfaat;

9. Bapak dan ibu serta saudara tercinta yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik materil maupun moral.

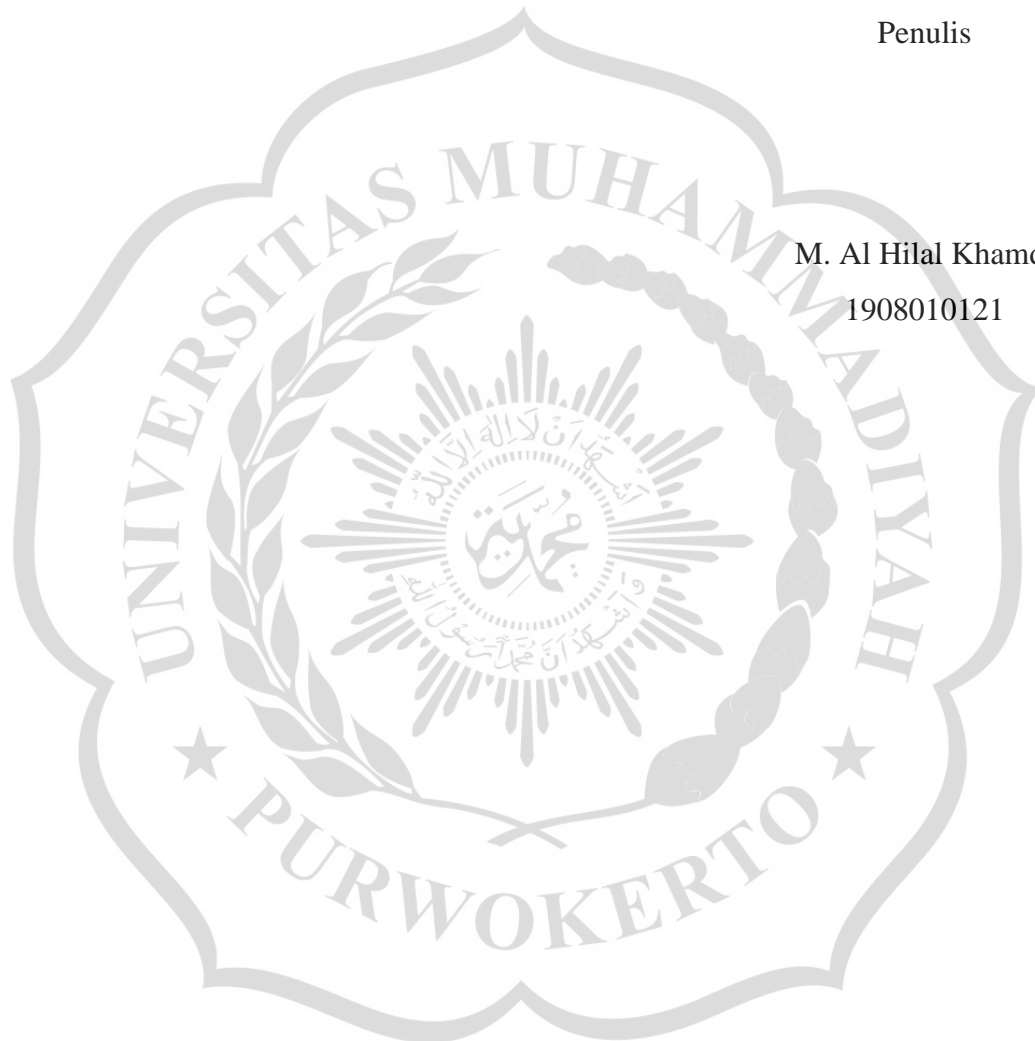
Akhir kata, semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu. Aamiin.

Purwokerto, 15 Juli 2023

Penulis

M. Al Hilal Khamdi

1908010121



## RIWAYAT HIDUP

**Nama** : M. Al Hilal Khamdi  
**Tempat dan Tanggal lahir** : Brebes, 4 April 2001  
**Orang Tua** : Rosul dan Wasiyati  
**Alamat** : Ds. Kretek Kec. Paguyangan Kab. Brebes  
**No. Hp** : 082325632208  
**Alamat email** : alhilal419@gmail.com

### Riwayat Pendidikan

- a. **Sekolah Dasar** : SDN Kretek 03
- b. **Sekolah Menengah Pertama**: SMP Al Hikmah
- c. **Sekolah Menengah Atas** : MA Al Hikmah 2

### Pengalaman

- : Asisten Praktikum Farmakognosi  
: Asisten Praktikum Mikrobiologi Farmasi  
: Mahasiswa magang di Apotek UMP

### Keanggotaan dalam organisasi

- a. Staff Departemen Seni dan Olahraga BEM Fakultas Farmasi periode 2019/2020
- b. Kepala Departemen Seni dan Olahraga BEM Fakultas Farmasi periode 2020/2021
- c. Staff Kementrian Pengembangan Organisasi dan Kaderisasi BEM Fakultas Farmasi periode 2021/2022
- d. Staff Content and Trainning Manager Patient Counseling Community Fakultas Farmasi periode 2021/2022

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Ai Hilal Khamdi  
NIM : 1908010121  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Fakultas : Farmasi  
Perguruan : Universitas Muhammadiyah Purwokerto  
Jenis Karya : Skripsi

Menyetujui untuk memberikan Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) kepada Universitas Muhammadiyah Purwokerto atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Teh-Tehan (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) Dan Fraksi-Fraksinya

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Purwokerto berhak menyimpan, mengalihmedia/ mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya dengan tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Purwokerto

Pada tanggal : 15 Juli 2023

Yang menyatakan,



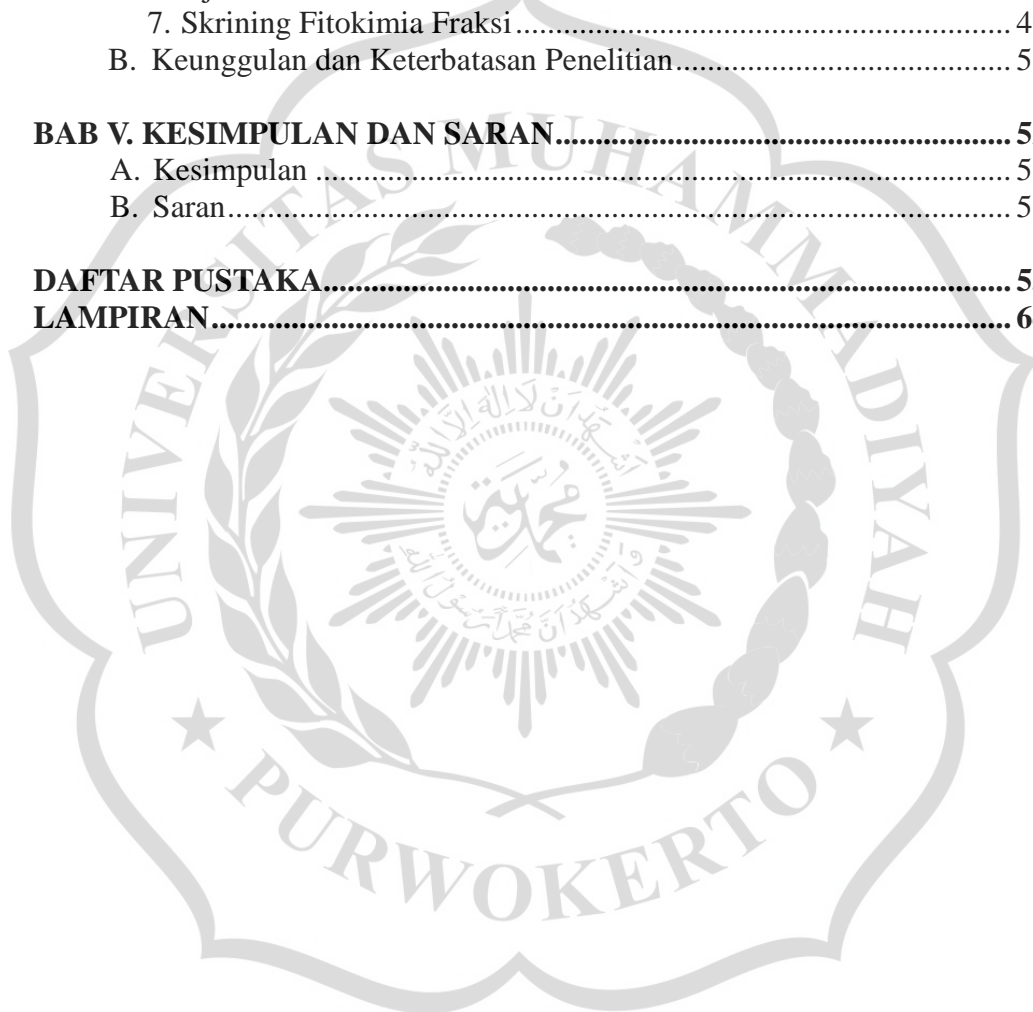
M. Ai Hilal Khamdi

1908010121

# DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iv
MOTTO.....	v
PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
RIWAYAT HIDUP .....	ix
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN.....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
DAFTAR SINGKATAN .....	xvii
ABSTRAK .....	xviii
ABSTRACT.....	xix
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
A. Hasil Penelitian Terdahulu .....	4
B. Landasan Teori .....	5
1. Teh-tehan ( <i>Acalypha siamensis</i> Olive. ex Gage) .....	5
2. Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif.....	7
3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	10
5. <i>Candida albicans</i> .....	11
6. Ekstraksi .....	13
7. Fraksinasi .....	13
8. Skrining Fitokimia .....	14
9. Metode Difusi Cakram .....	18
C. Kerangka Konsep .....	19
D. Hipotesis.....	20
<b>BAB III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>21</b>
A. Jenis dan Rancangan Penelitian.....	21
B. Variabel Penelitian .....	21
C. Definisi Variabel Penelitian .....	21
D. Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
E. Alat dan Bahan .....	23

F. Cara Penelitian.....	23
G. Analisis Hasil.....	30
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
A. Hasil dan Pembahasan.....	31
1. Pengumpulan Bahan .....	31
2. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Teh-tehan .....	32
3. Skrining Fitokimia Ekstrak.....	34
4. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Teh-tehan .....	40
5. Fraksinasi .....	46
6. Uji Aktivitas Antiikroba Fraksi-Fraksi .....	48
7. Skrining Fitokimia Fraksi.....	49
B. Keunggulan dan Keterbatasan Penelitian.....	51
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>52</b>
A. Kesimpulan .....	52
B. Saran.....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>64</b>



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Teh-tehan ..... 4
Tabel 2.2	Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Teh-tehan ..... 4
Tabel 2.3	Mekanisme Kerja Antimikroba Metabolit Sekunder ..... 7
Tabel 3.1	Konsentrasi Larutan Uji Antibakteri .....27
Tabel 3.2	Konsentrasi Larutan Uji Antifungi.....28
Tabel 3.3	Perbandingan Pelarut Pada Masing-Masing Gradien.....28
Tabel 4.1	Hasil Rendemen Ekstrak Daun Teh-tehan .....33
Tabel 4.2	Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Teh-tehan .....34
Tabel 4.3	Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Teh-tehan .....41
Tabel 4.4	Klasifikasi Efektifitas Antimikroba.....41
Tabel 4.5	Rendemen Fraksi Gabungan.....48
Tabel 4.6	Diameter Zona Hambat Fraksi-Fraksi .....49
Tabel 4.7	Hasil Skrining Fitokimia Tiga Fraksi Teraktif .....50

## DAFTAR GAMBAR

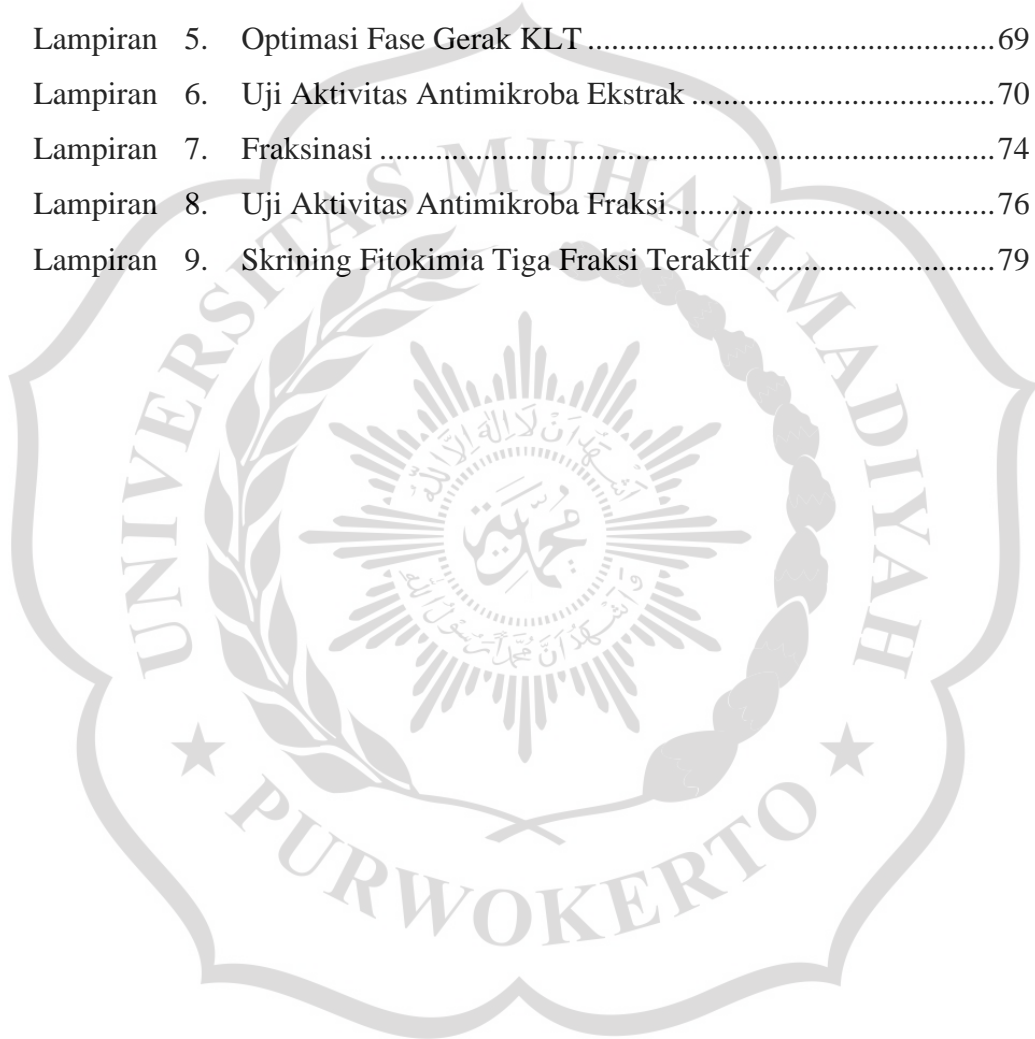
	Halaman
Gambar 2.1	Tanaman Teh-tehan..... 6
Gambar 2.2	Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif ..... 9
Gambar 2.3	Morfologi dan Kultur Bakteri <i>S.aureus</i> ..... 10
Gambar 2.4	Morfologi dan Kultur Bakteri <i>P.aeruginosa</i> ..... 11
Gambar 2.5	Dinding Sel <i>C.albicans</i> ..... 12
Gambar 2.6	Morfologi dan Kultur Jamur <i>C.albicans</i> ..... 13
Gambar 2.7	Reaksi Flavonoid dengan Mg dan HCl ..... 15
Gambar 2.8	Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff dan Mayer.. 16
Gambar 2.9	Reaksi Terpenoid dengan Liebermann-Burchard ..... 17
Gambar 2.10	Reaksi Steroid dengan Liebermann-Burchard ..... 17
Gambar 2.11	Reaksi Polifenol dengan FeCl <sub>3</sub> ..... 18
Gambar 4.1	Serbuk Simplisia Daun Teh-tehan ..... 32
Gambar 4.2	Ekstrak Metanol Daun Teh-tehan ..... 33
Gambar 4.3	Struktur Afzelin dan Quersetin-3-O-β-D-xylopyranoside .... 35
Gambar 4.4	Struktur Rutin..... 36
Gambar 4.5	Struktur Apigenin..... 36
Gambar 4.6	Struktur Alkaloid Indole ..... 36
Gambar 4.7	Struktur Alkaloid Glutarimida ..... 36
Gambar 4.8	Struktur Ricinine dan Piperidine ..... 37
Gambar 4.9	Struktur Stigmasterol dan β-Sitosterol..... 38
Gambar 4.10	Struktur Sitosterol-O-β-D-xylopyranoside ..... 38
Gambar 4.11	Struktur Daucosterol ..... 38
Gambar 4.12	Struktur Corilagin ..... 38
Gambar 4.13	Struktur Geraniin..... 39
Gambar 4.14	Struktur Amariin ..... 39
Gambar 4.15	Struktur Furosin ..... 39
Gambar 4.16	Struktur Asam Geraniinic dan Asam Amarinic ..... 40
Gambar 4.17	Struktur Isocorilagin..... 40
Gambar 4.18	Mekanisme Kerja Alkaloid ..... 44

Gambar 4.19 Mekanisme Kerja Polifenol dan Steroid .....45  
Gambar 4.20 Pola Bercak Fraksi-Fraksi.....47

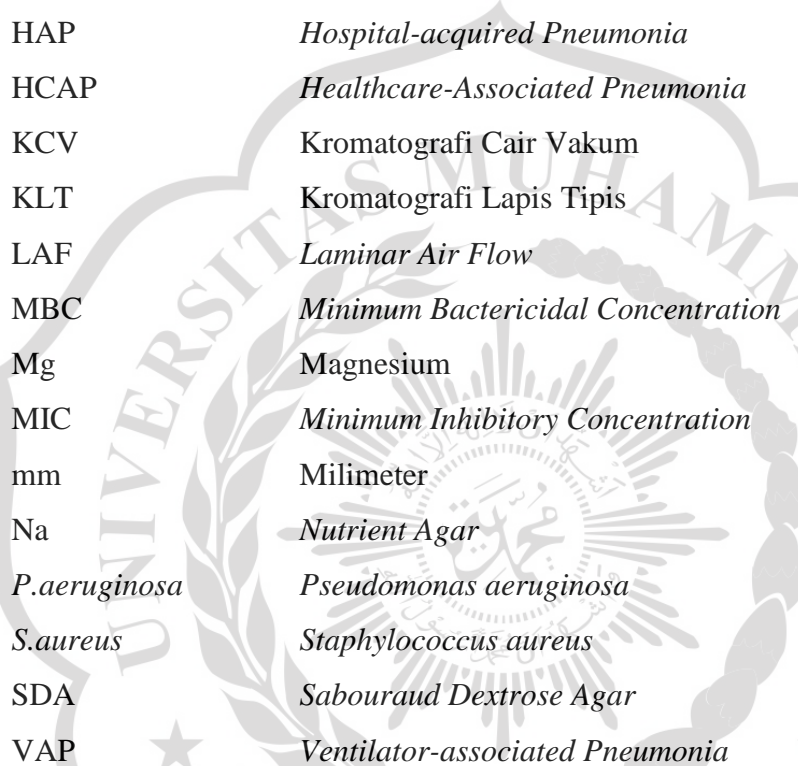


## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pengumpulan Bahan.....	64
Lampiran 2. Hasil Determinasi.....	65
Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Teh-tehan.....	67
Lampiran 4. Skriing Fitokimia Ekstrak .....	68
Lampiran 5. Optimasi Fase Gerak KLT .....	69
Lampiran 6. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak .....	70
Lampiran 7. Fraksinasi .....	74
Lampiran 8. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi.....	76
Lampiran 9. Skrining Fitokimia Tiga Fraksi Teraktif .....	79



## DAFTAR SINGKATAN



AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
<i>C.albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CFU	Colony Forming Unit
DMSO	Dimetil Sulfoksida
HAP	<i>Hospital-acquired Pneumonia</i>
HCAP	<i>Healthcare-Associated Pneumonia</i>
KCV	Kromatografi Cair Vakum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
MBC	<i>Minimum Bactericidal Concentration</i>
Mg	Magnesium
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
mm	Milimeter
Na	<i>Nutrient Agar</i>
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SDA	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
VAP	<i>Ventilator-associated Pneumonia</i>

## AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK METANOL DAUN TEH-TEHAN (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) DAN FRAKSI-FRAKSINYA

M. Al Hilal Khamdi<sup>1</sup>, Shintia Lintang Charisma<sup>2</sup>, Retno Wahyuningrum<sup>3</sup>

### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Indonesia memiliki potensi besar dalam pengembangan antimikroba dari tanaman karena keanekaragaman hayati Indonesia termasuk yang paling tinggi dengan 30.000 spesies tanaman. Tanaman teh-tehan (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) merupakan tanaman yang potensial sebagai sumber senyawa antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak metanol daun teh-tehan dan fraksi-fraksinya serta mengetahui golongan senyawanya **Metode:** Serbuk simplisia daun teh-tehan diekstraksi dengan metode maserasi dengan cairan penyari metanol, sedangkan fraksinasi dilakukan menggunakan metode kromatografi cair vakum. Ekstrak daun teh-tehan diuji terhadap *S.aureus*, *P.aeruginosa* dan *C.albicans*, sedangkan fraksi-fraksinya diuji terhadap *S.aureus*. Sampel diuji dengan metode difusi cakram. **Hasil:** Ekstrak metanol daun teh-tehan memiliki aktivitas lemah sebagai antimikroba terhadap bakteri *S.aureus*, namun tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap *P.aeruginosa* dan *C.albicans*. Ekstrak dengan konsentrasi 10% menunjukkan zona hambat yang paling baik dengan diameter zona hambat  $10,81 \pm 0,85$  mm terhadap *S.aureus* dan  $8,58 \pm 0,27$  mm terhadap *P.aeruginosa*. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun teh-tehan adalah flavonoid, alkaloid, steroid dan polifenol. Fraksi-fraksi dari ekstrak metanol daun teh-tehan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S.aureus*. Tiga fraksi teraktif yaitu fraksi 7; 8 dan 9 dengan konsentrasi 2,5% menunjukkan diameter zona hambat dengan diameter  $14,60 \pm 1,56$  mm;  $11,86 \pm 0,95$  mm dan  $9,62 \pm 0,88$  mm. Fraksi 7 dan 8 teridentifikasi mengandung golongan senyawa flavonoid, steroid dan polifenol, sedangkan fraksi 9 mengandung golongan senyawa flavonoid dan polifenol. **Kesimpulan:** Ekstrak metanol daun teh-tehan memiliki aktivitas lemah sebagai antimikroba terhadap bakteri *S.aureus*. Fraksi-fraksi dari ekstrak metanol daun teh-tehan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S.aureus*. Fraksi-fraksi dari ekstrak metanol daun teh-tehan menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih baik terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Ekstrak metanol daun teh-tehan mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, steroid dan polifenol. Tiga fraksi teraktif mengandung golongan senyawa flavonoid, steroid dan polifenol.

**Kata Kunci:** *Acalypha siamensis* Olive. ex Gage, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *C.albicans*, difusi cakram

## ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT OF TEH-TEHAN (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) LEAVES AND ITS FRACTIONS

M. Al Hilal Khamdi<sup>1</sup>, Shintia Lintang Charisma<sup>2</sup>, Retno Wahyuningrum<sup>3</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Indonesia has a great potential in the development of antimicrobials from plants because Indonesia's biodiversity is among the highest with 30.000 plant species. The teh-tehan plants (*Acalypha siamensis* Olive. ex Gage) is potential plant as a source of antimicrobial compounds. This research aims to determine the antimicrobial activity of the methanol extract of teh-tehan leaves and their fractions and to determine the class of compounds. **Method:** Teh-tehan leaves simplicia powder was extracted by maceration method with methanol solvent, whereas the fractionation was carried out using a vacuum chromatography liquid method. Teh-tehan leaves extract were tested against *S.aureus*, *P.aeruginosa* and *C.albicans*, whereas the fractions were tested against *S.aureus*. Samples were tested by the disc diffusion method. **Results:** The methanol extract of teh-tehan leaves had weak antimicrobial activity against *S.aureus* bacteria, but did not have antimicrobial activity against *P.aeruginosa* and *C.albicans*. Extract with a concentration of 10% showed the best inhibition zone with an inhibition zone diameter of 10.81 mm  $\pm$  0.85 against *S.aureus* and 8.58 mm  $\pm$  0.27 against *P.aeruginosa*. The class of compounds contained in the methanol extract of teh-tehan leaves are flavonoids, alkaloids, steroids and polyphenols. Fractions from the methanol extract of teh-tehan leaves have antimicrobial activity against *S.aureus*. The three most active fractions are fraction 7; 8 and 9 with a concentration of 2.5% showed inhibition zone with an inhibition zone diameter of 14.60 mm  $\pm$  1.56; 11,86  $\pm$  0,95 mm and 9,62  $\pm$  0,88 mm. Fractions 7 and 8 were identified to contain a class of flavonoids, steroids and polyphenols, while fraction 9 contained a class of flavonoids and polyphenols. **Conclusion:** methanol extract of teh-tehan leaves had weak activity as antimicrobial against *S.aureus* bacteria. Fractions from the methanol extract of teh-tehan leaves have antimicrobial activity against *S.aureus* bacteria. Fractions of the methanol extract of teh-tehan leaves showed better inhibitory activity against the growth of *S.aureus* bacteria. The methanol extract of teh-tehan leaves contains compounds belonging to the class of flavonoids, alkaloids, steroids and polyphenols. The three most active fractions contain a class of flavonoids, steroids and polyphenols.

**Keywords:** *Acalypha siamensis* Olive. ex Gage, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *C.albicans*, disc diffusion