

Potensi Ekstrak Daun Sage (*Salvia officinalis.L*) sebagai anti-*Streptococcus suis* Penyebab Zoonotik Meningitis

Sage Leaves Extract Potency as anti *Streptococcus suis* which caused Zoonotic Meningitis

Mitra Slipranata¹, Fajar Budi Lestari², Noyra Arya Sandi³,
 Siti Isrina Oktavia Salasia¹

¹ Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

² Diploma Kesehatan Hewan, Sekolah Vokasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

³ Program Profesi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

Email isrinasalasia@ugm.ac.id

Abstract

The phenomenon of microbial resistance to an antibiotic or some kind of specific antibiotics (multi drugs resistance) greatly complicate the treatment process, one of which is *Streptococcus suis* (*S. suis*) which is known to cause meningitis in animals and humans. Today, with rising bacterial resistance to a wide range of antibiotics, it takes an effort to assess the potential medicinal plants as an antibiotic that is appropriate and safe. Sage (*Salvia officinalis.L*) is reported to have antibacterial and fungicidal effect. Phenolic acids such as salvin and ether monomethyl salvin which isolated from the sage thought to have antimicrobial activity against several bacterial strains. The purpose of this study was to prove the ability of sage leaf extract as an antibacterial against *S. suis* causes streptococcal meningitis in vitro. In-vitro method used in this research through a two-stage dilution test and the diffusion test on Mueller Hinton Agar (MHA). *S. suis* isolates (code 225) were tested in vitro against 8 levels sage leaf extract concentration, ie a concentration of 1%, 3% 5%, 7%, 10%, 20%, 40% and 60%. The results of the test obtained by minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum sage known to potentially inhibit the growth of *S. suis*.

Keywords: *Streptococcus suis*, meningitis, zoonotic, *Salvia officinalis. L*, antibacterial

Abstrak

Fenomena resistensi mikrobia terhadap suatu antibiotik atau beberapa jenis antibiotika tertentu (*multi-drugs resistance*) sangat menyulitkan proses pengobatan, salah satunya adalah *Streptococcus suis* (*S. suis*) yang diketahui penyebab meningitis pada hewan maupun manusia. Saat ini dengan meningkatnya resistensi bakteri terhadap berbagai macam antibiotik, maka dibutuhkan suatu usaha untuk mengkaji tanaman obat yang berpotensi sebagai antibiotik yang tepat dan aman. Sage (*Salvia officinalis.L*) dilaporkan memiliki efek antibakterial dan fungisidal. Asam *phenolic* seperti *salvin* dan *salvin monomethyl ether* yang diisolasi dari sage diduga memiliki aktivitas antimikrobia terhadap beberapa strain bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan pembuktian terhadap kemampuan ekstrak daun sage sebagai antibakteri terhadap *S. suis* penyebab *streptococcal* meningitis secara *in-vitro*. Metode *in-vitro* yang digunakan dalam penelitian ini melalui dua tahap uji dilusi dan uji difusi pada *Mueller Hinton Agar* (MHA). Isolat *S. suis* (kode 225) yang diujikan secara *in-vitro* terhadap 8 tingkatan konsentrasi ekstrak daun sage, yaitu konsentrasi 1%, 3% 5%, 7%, 10%, 20%, 40%, dan 60%. Hasil dari uji tersebut diperoleh *minimum inhibitory concentrations* (MICs) dan *minimum* sage diketahui berpotensi menghambat pertumbuhan *S. suis*.

Kata kunci: *Streptococcus suis*, meningitis, zoonotik, *Salvia officinalis. L*, antibacterial

Pendahuluan

Salah satu masalah global yang sedang dihadapi adalah resistensi bakteri terhadap antibiotik baik pada negara berkembang maupun negara maju oleh karena itu dibutuhkan beberapa tindakan untuk mengurangi masalah ini (Rizka, 2012). Upaya-upaya yang telah dilakukan diantaranya adalah mengontrol penggunaan antibiotik, mengembangkan penelitian untuk lebih mengerti tentang mekanisme resistensi secara genetik dan penemuan obat baru baik sintetik maupun yang berasal dari alam (Karadi *et al.*, 2011).

Meningitis merupakan masalah medis yang serius serta membutuhkan pengenalan dan penanganan segera untuk mencegah kematian. Sampai saat ini meningitis masih merupakan infeksi yang menakutkan, menyebabkan mortalitas dan morbiditas yang tinggi terutama di negara berkembang (Rizka, 2012). Meskipun telah banyak kemajuan dalam penemuan antibiotika dan terapi pendukung, mortalitas akibat meningitis masih tetap tinggi. Tingkat keparahan meningitis dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya virulensi dan jenis agen penyebab, status imunitas pasien, resistensi pada antibiotik dan penatalaksanaannya. Salah satu agen utama penyebab meningitis adalah *Streptococcus suis* (*S.suis*). Infeksi *S. suis* khususnya serotipe 2, bersifat zoonosis dengan 88% infeksi ditandai dengan gejala klinis berupa meningitis, gangguan pendengaran dan gangguan pernafasan (Kay *et al.*, 1995). Penisilin dan cefotaxime adalah dua antibiotik yang paling sering digunakan untuk mengobati meningitis. Namun beberapa bakteri penyebab meningitis khususnya *Streptococcus suis* menjadi semakin resisten terhadap penisilin, sehingga dokter sering menggabungkan berbagai jenis antibiotik untuk mencoba membunuh bakteri. Munculnya kuman-kuman patogen yang kebal terhadap satu (*antimicrobial resistance*) atau beberapa jenis antibiotika tertentu (*multi-drug resistance*) sangat menyulitkan proses pengobatan (APUA, 2011).

Pengobatan dan pemberdayaan obat tradisional merupakan salah satu komponen program pelayanan kesehatan dasar yang digunakan sebagai alternatif untuk memenuhi kebutuhan penduduk (Heming, 1996). Upaya pencarian bahan baku obat dari bahan alam sampai saat ini masih terus dilakukan. Sage (*Salvia officinalis.L*) merupakan tanaman herbal yang belum banyak dikenal dan dimanfaatkan di Indonesia untuk alternatif pengobatan. Di Eropa dan Cina, ekstrak dan minyak esensial tanaman sage telah banyak digunakan untuk berbagai aplikasi seperti makanan, kosmetik maupun keperluan industri farmasi (Stammati *et al.*, 1999). Secara tradisional sage telah banyak digunakan untuk pengobatan seperti penanganan pada kasus peradangan pada mulut dan tenggorokan (Baričević *et al.*, 2001). Selain itu, sage juga telah dilaporkan memiliki kemampuan antimutagenik dan untuk penanganan cancer (Craig, 1999; Simić *et al.*, 2000; Knežević-Vukčević *et al.*, 2001). Sage dilaporkan memiliki efek antibakterial, fungisidal, virustatik dan astrigensia. Asam *phenolic* seperti *salvin* dan *salvin monomethyl ether* yang diisolasi dari Sage diduga memiliki aktivitas antimikrobia khususnya dalam melawan infeksi *Staphylococcus aureus* (Dragana *et al.*, 2005).

Materi dan Metode

Bahan utama yang digunakan adalah tanaman sage diperoleh dari daerah Tabanan, Bali. Proses determinasi dan ekstraksi menggunakan *ethanol* 70% dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.

Alat-alat utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikrotip putih 10 µl (Axygen, USA), mikrotip kuning 200 µl (LP, Itali), mikrotip biru 1.000 µl (LP, Itali), tube 1,5 ml (LP, Itali), konikel (LP, Itali), tabung reaksi (Pyrex, Jepang), tabung *erlenmeyer* (Pyrex, Jepang), spuit 1 dan 3 ml (Terumo, Jepang), *microhaematocrit*

(BRIS, Denmark), mikropipet 10 µl (Nichipet, Jepang), mikropipet 200 µl (Nichipet, Jepang), mikropipet 1.000 µl (Nichipet, Jepang), DNA *mini-spin column* (Qiagen, Jerman), *vortex* (Heidolph, Jerman), *stirrer* (Heidolph, Jerman), mesin sentrifuge (Eppendorf, Jerman), *waterbath* (Memmert, Jerman), refrigerator (Sharp, Jepang), kamar hitung *neurbaur* (Jerman).

Ekstraksi Sage

Bahan segar yang didapat dibuat simplisia melalui pengeringan dengan cara diangin-anginkan dan dengan menggunakan mesin penggiling. Sebanyak 40 gram serbuk simplisia sage yang telah diayak dengan ayakan mesh 40 dimaserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 400 mL, kemudian direndam selama 24 jam sambil sesekali diaduk, setelah 24 jam didiamkan kemudian disaring dengan menggunakan corong yang dilapisi kertas saring sehingga didapat filtrat kemudian ampas yang didapat diremaserasi sebanyak empat kali sampai larutan mendekati tidak berwarna. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 95% karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar, dan non polar (Arifin *et al.*, 2006). Filtrat yang telah dihasilkan kemudian dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 500°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Kultur bakteri

Streptococcus suis strain 375 yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Prof. Dr. drh. Siti Isrina Oktavia Salasia, Bagian Patologi Klinik FKH, UGM. *Streptococcus suis* strain 375 ditanam pada media plat agar darah (PAD) selama 24 jam, secara anaerob pada suhu 37°C. Koloni bakteri selanjutnya dibiakan dalam media *Todd-Hewitt Broth* (THB) pada suhu 37°C selama 24 jam dan anaerob. Uji biokimiawi dilakukan menurut metode

Higgins dan Gottschalk (1990) serta Tarradas *et al* (1994) menggunakan media 6,5% NaCl agar, uji *Voges-Proskaveur* (VP), manosa dan manitol. Media ditanam selama 24 jam, suhu 37°C secara anaerob. Pengamatan dilakukan terhadap zona hemolisa pada PAD, pengecatan Gram, pertumbuhan pada media THB dan media uji biokimiawi.

Uji ekstrak daun sage *in vitro*

Uji *in-vitro* dilakukan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dari ekstrak sage terhadap *Streptococcus suis* menggunakan media *Mueller Hinton Agar*. Sampel ekstrak dibuat dengan berbagai macam konsentrasi mulai dari konsentrasi besar hingga terkecil 60%, 40%, 20%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1% dan 0,05%. Pengujian dilakukan berdasarkan prinsip penghitungan zona hambatan menggunakan *paper discs*. *Paper discs* direndam dalam konsentrasi tertentu larutan uji dan ditempatkan di permukaan media yang telah ditanam *S.suis*. *Plates* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam keadaan anaerob dan zona hambatan disekitar *disc* diukur serta dibandingkan dengan referensi standar. Pada tahap ini digunakan 2 jenis antibiotik sintetik yaitu penisilin dan cefotaxime sebagai pembandin

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian tersaji dalam Tabel 1, Gambar 1 dan Gambar 2.

Hasil uji aktifitas antibakteri secara *in-vitro* dengan metode difusi (Gambar 1) dan dilusi (Gambar 2) dilakukan untuk melihat MICs (*minimum inhibitory concentrations*) dan MBCs (*minimum bactericidal concentrations*). Tabel 1 menjelaskan zona inhibisi yang menunjukkan sifat sensitif untuk setiap pengenceran ekstrak sage (Merdana, 2010). Ekstrak sage pada konsentrasi minimal yaitu 1% yang menyebabkan bakteri tidak tumbuh pada media agar pada petri (uji difusi) dan agar miring pada

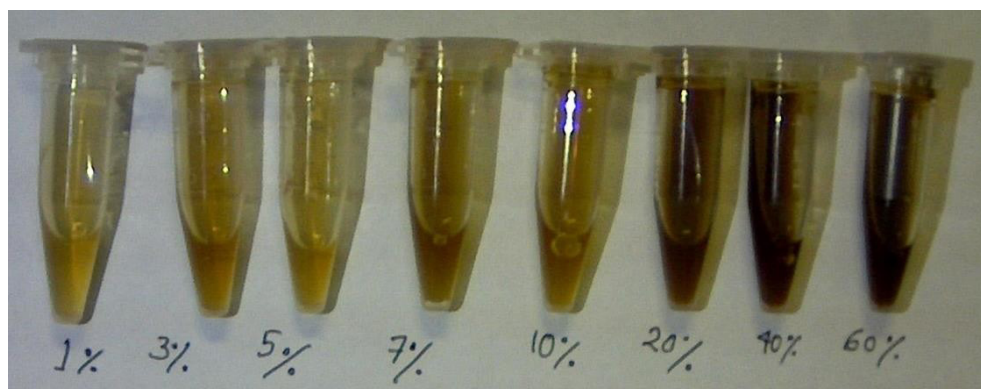
Tabel 1. Hasil *susceptibility test* pada *S. suis* dengan metode *agar diffusion* dan *dilution*.

| Sage Leaf Extract (SLE) | Diameter Zona inhibisi (mm) | Standard zona inhibisi (mm) | Uji Dilusi | Interpretasi |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------|--------------------|
| SLE 1% | 11 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 3% | 12 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 5% | 14 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 7% | 14 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 10% | 14 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 20% | 16 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 40% | 19 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |
| SLE 60% | 25 | ≥ 5.62 (mangosteen)* | - | <i>Susceptible</i> |

Merdana, 2010)



Gambar 1. Hasil uji difusi agar pada media Muller-Hinton dengan paper disc ekstrak daun sage konsentrasi 1% sampai dengan 60%.



Gambar 2. Hasil uji dilusi pada media Muller-Hinton dengan ekstrak daun sage konsentrasi 1% sampai dengan 60%.

tabung (uji dilusi). Hasil tersebut dianggap sebagai kadar MICs, selanjutnya untuk mengetahui MBCs dilakukan dengan melakukan kultur dari media MICs pada media kultur steril, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator (Suwandi, 2012). Sage dilaporkan memiliki efek

antibakterial, fungisidal, virustatik dan astrigenia. Asam *phenolic* seperti *salvin* dan *salvin monomethyl ether* yang diisolasi dari Sage diduga memiliki aktivitas antimikrobal khususnya dalam melawan infeksi *Staphylococcus aureus* (Dragana *et al.*, 2005).

Kesimpulan

Aktifitas antibakterial dari ekstrak daun sage disebabkan adanya kandungan beberapa senyawa aktif khususnya golongan polifenol dengan efek bervariasi dan tergantung pada solven, metode ekstraksi serta konsentrasi ekstrak. Penggunaan antibiotik alternatif dari daun sage diharapkan dapat membantu mengatasi infeksi oleh *S. suis* sekaligus langkah awal untuk pengembangan antibiotika alternatif.

Daftar Pustaka

- Apua (Alliance For Prudent Use of Antibiotics). (2011). What is antibiotic resistance and why is it problem?. www.apua.org on 16-09-2011.
- Baricevic, D., Sosa, S., Della, L.R., Tubaro, A., Simonovska, B., and Krasna, A.(200)1. Topical Anti- Inflammatory Activity of *Salvia officinalis L.* leaves: The Relevance of Ursolic Acid. *J.Ethno. pharmacol.* 75:125–32.
- Craig, J.W. (1999). Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: (suppl.):491-499.
- Dragana, M.C., Branka, V.G., Jelena,K.V., Stankovic, S., and Draga, S. (2005). Comparative Study On The Antibacterial Activity Of Volatiles From Sage (*Salvia Officinalis L.*). *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 57 (3): 173-178.
- Hembing, W.H.M. (1996). *Tanaman Obat Berkhasiat Indonesia*. Jilid 1. Pustaka Kartini. Jakarta: 1-2.
- Karadi, R.V., Arpan, S., Pranav, P. and Parvez, A. (2011). Antimicrobial Activities of *Musa paradisiaca* and *Cocos nucifera*. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences.* 2: 264-267.
- Kay, R., Cheng,A.F. and Tse C.Y. (1995). *Streptococcus suis* infection in Hong Kong. *QJ Med.* 88 : 39-47.
- Knezevic-Vukcevic, J., Vokovic_Gacic, B., Mitic, D., Beric, T., Nikolic, B. and Simic, D. (2001) Modulation of mutagenesis by terpenoids from sage (*Salvia officinalis L.*) *World Conf. Med.and Arom. Plants. Abst.* 0I/16.
- Merdana, I.M. (2010) . *Antibacterial Bioactivity Test of Traditional Herb*. Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Vol. 3 No. 2.
- Rizka, H. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepeh Dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca Var.Sapientum*) Terhadap *Staphylococcus aureus*.
- Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro:12.
- Stammati, A. Bonsi, P., Zucco, F., Moezelaar, R., Alakomi, H.L. and Von Wright, A. (1999). Toxicity of Selected Plant Volatiles in Microbial and Mammalian Short-term Assay. *Food and Chem. Tox.* 37: 813-823.
- Simic, D., Knezevic-Vukcevic, J. and Vukovic-Gacic, B. (2000). Prospects in using medicinal and aromatic plants in cancer prevention. *Proc. of the First Conf. on Med. and Arom. Plants South. Europ. Coun.:* 97-104.
- Suwandi, T.(2012). Pengembangan potensi antibakteri kelopak bunga *Hibiscus sabdariffa L.* (Rosela) Terhadap *Streptococcus sanguinis* penginduksi gingivitis menuju obat herbal terstandar. Jakarta. Disertasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.