

Uji Aktivitas Antibakteri *Ekstra Virgin Olive Oil* (EVOO) Terhadap *Streptococcus Agalactiae*

Wenny Rahmawati¹, Dwi Norma Retnaningrum²

^{1,2}STIKES Widyagama Husada Malang

E-mail : wenny@widyagamahusada.ac.id

ABSTRACT

Streptococcus agalactiae is a pathogen known to frequently cause infections in both mothers and children. It can lead to complications such as premature birth, premature rupture of membranes, postpartum infections, pneumonia, meningitis, and sepsis. Current treatment for *Streptococcus agalactiae* often involves antibiotics, which can contribute to antibiotic resistance. Given the increasing concern about antibiotic resistance, the development of herbal antibacterials is gaining momentum, with extra virgin olive oil (EVOO) being one such area of interest. EVOO contains oleuropein, flavonoids, and essential oils, all of which possess antibacterial properties. The objective of this research is to demonstrate the antibacterial activity of extra virgin olive oil (EVOO). The study employed a true experimental design with a post-test-only control group, using the disc diffusion method to measure bacterial inhibition zones. The results revealed the largest inhibition zone, measuring 15.9 mm, with a 3 ml dose of EVOO. The correlation test indicated a significant value of 0.000, with a coefficient of -726, suggesting that an increase in EVOO dose results in a reduction in the *Streptococcus agalactiae* bacterial population. Based on these findings, it can be concluded that extra virgin olive oil (EVOO) exhibits potent antibacterial activity against *Streptococcus agalactiae*.

Keywords : *Streptococcus agalactiae*; *Extra virgin olive oil*; Antibacterial

ABSTRAK

Streptococcus agalactiae adalah patogen yang sering menimbulkan infeksi bagi ibu dan anak. Bakteri ini memicu kejadian prematuritas, ketuban pecah dini, infeksi paska kelahiran, pneumonia, meningitis serta sepsis. Pengobatan pada *Streptococcus agalactiae* masih menggunakan antibiotik yang bisa memicu terjadinya resistensi. Resistensi antibiotik saat ini sudah banyak ditemukan, oleh sebab itu pengembangan antibakteri dengan herbal berkembang pesat salah satunya yakni *Extra virgin olive oil* (EVOO). EVOO mengandung senyawa oleuropein, flavonoid dan minyak atsiri yang mempunyai potensi untuk antibakteri. Tujuan penelitian ini yaitu membuktikan bahwa *Extra virgin olive oil* (EVOO) mempunyai aktivitas antibakteri. Penelitian dilakukan secara *true experimental - post test only control group design* dengan metode difusi cakram untuk mengetahui diameter data hambat bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter daya hambat terluas 15,9 mm pada dosis 3 ml. Uji korelasi menunjukkan nilai sig 0,000 dan nilai koefisien = -726 yang berarti peningkatan dosis EVOO akan menyebabkan berkurangnya jumlah bakteri *Streptococcus agalactiae*. Mengacu pada hasil penelitian bisa disimpulkan jika *Extra virgin olive oil* (EVOO) mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Streptococcus agalactiae*.

Kata kunci : *Streptococcus agalactiae*; *Extra virgin olive oil*; Antibakteri

PENDAHULUAN

Streptococcus agalactiae adalah bakteri yang kerap menimbulkan masalah pada ibu maupun anak (do Nascimento et al., 2019). Pada ibu hamil bakteri ini memicu terjadinya ketuban pecah dini dan kelahiran prematur (Shabayek, 2022). Saat masa nifas menyebabkan infeksi postnatal dan pada bayi dapat memicu pneumonia, meningitis dan sepsis (Raabe & Shane, 2019)(Genovese et al., 2020). *Streptococcus agalactiae* juga dapat menyebabkan terjadinya infeksi pada organ reproduksi lainnya seperti tuba fallopi dan servik (de Melo et al., 2018). *Streptococcus agalactiae* adalah bagian dari bakteri normal yang berada di saluran genitourinari, namun bisa menjadi patogen invasif dalam kondisi rentan (Savini et al., 2013). Pengobatan pada *Streptococcus agalactiae* selama ini masih menggunakan antibiotik (Bolukaoto et al., 2015). Konsumsi antibiotik yang berkepanjangan dan dengan dosis yang tidak akurat mempunyai dampak negatif yakni ikut terbunuhnya bakteri baik dalam tubuh dan terjadi resistensi antibiotik (Sharma et al., 2016). Semakin seringnya upaya pemberian antibiotik maka semakin banyak kesempatan bakteri mengembangkan gen baru untuk melawan antibiotik tersebut, sehingga akibat paling fatal dari resistensi antibiotik akan memicu terjadinya kematian (Gupta et al., 2019). Resistensi antibiotik saat ini sudah banyak ditemukan, oleh sebab itu pengembangan antibakteri dengan herbal berkembang pesat salah satunya yakni *extra*

virgin olive oil (EVOO). EVOO merupakan minyak zaitun murni dengan komposisi masih asli dari minyak zaitun karena proses pemerasan dengan alat dibawah suhu yang sesuai, sehingga komponen-komponen minyak tidak mengalami perubahan dari panas yang biasa ditimbulkan saat pemrosesan (Jimenez-Lopez et al., 2020).

EVOO mengandung oleuropein, flavonoid dan minyak atsiri yang mempunyai potensi untuk antibakteri (Geromichalou & Geromichalos, 2022). Mekanisme kerja aktivitas antibakteri senyawa-senyawa ini yaitu dengan memicu peningkatan permeabilitas dari membran sitoplasma. Peningkatan ini akan mengakibatkan bocornya komponen intraseluler dan menimbulkan koagulasi sitoplasma yang berdampak pada lisisnya sel bakteri tersebut (Slavin et al., 2017) (Donadio et al., 2021). Penelitian terkait manfaat EVOO sebagai antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi telah banyak dilakukan sebelumnya. EVOO juga bermanfaat untuk mengurangi terjadinya risiko trombotik, inflamasi, arterosklerosis, kanker serta stres oksidatif. Hasil penelitian Summerhill (2018), EVOO dihubungkan dengan turunnya kadar biomarker inflamasi serta partikel yang berperan pada arterosklerosis dan juga pada penyakit-penyakit kardiovaskular, gagal jantung, fibrilasi atrium maupun kematian akibat komplikasi penyakit tersebut (Summerhill et al., 2018).

Penelitian Bulotta (2016), juga mendapatkan hasil jika kandungan molekul polifenol yang tinggi dalam EVOO berpengaruh terhadap anti inflamasi dan kardioprotektif. Polifenol tinggi berperan sebagai penangkal radikal bebas pada kondisi yang berhubungan dengan kardiovaskuler (Bulotta et al., 2014). Hasil penelitian Rahardjo (2020), menyebutkan bahwa EVOO berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang terbukti bisa mencegah preeklamsia dengan melihat pengaruhnya pada biomarker stres oksidatif diantaranya MDA, ADMA dan NO. EVOO mampu menurunkan kadar MDA dan ADMA, serta meningkatkan kadar NO (Rahardjo et al., 2020).

EVOO juga terbukti dapat menurunkan kadar ET-1, HSP-90 dan TNF- α pada tikus induksi preeklamsia (Rahardjo et al., 2020). Akan tetapi, publikasi mengenai aktivitas antibakteri EVOO terhadap *Streptococcus agalactiae* belum pernah dilaporkan. Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti bertujuan melakukan penelitian tentang kemampuan *Extra virgin olive oil* (EVOO) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus agalactiae*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang. Rancang penelitian menggunakan posttest

only control design. Penelitian dilakukan bulan desember 2022-februari 2023. Pengujian aktivitas antibakteri dari EVOO dilaksanakan dengan menggunakan metode difusi cakram (Balouiri et al., 2016). Penelitian ini menggunakan 5 sampel cawan petri sebagai pengulangan dengan perlakuan serta dosis yang sama pada masing-masing cawan petri. Langkah awal dengan meletakkan 1 ml suspensi bakteri *Streptococcus agalactiae* pada medium MHA (*Muller Hinton Agar*) yang berisi kertas cakram (Åhman et al., 2022).

Medium MHA ini kemudian diinkubasi dalam waktu 24 jam. Langkah selanjutnya yaitu memasukan EVOO dengan dosis yang berbeda pada medium MHA tersebut. Kontrol negatif menggunakan air, kontrol positif penicilin dan dosis EVOO masing-masing yaitu 0,5 ml, 1 ml, 2 ml dan 3 ml. Medium MHA ini diinkubasi kembali selama 24 jam. Paska 24 jam inkubasi, dilakukan pengukuran diameter daya hambat (DDH) yang diperoleh dari area bening di sekitar cakram pada medium MHA tersebut (Perez-Gavilan et al., 2021). Data dari penelitian ini akan dilakukan analisa statistik. Analisa statistik menggunakan uji *One Way Anova* yang sebelumnya dilakukan uji distribusi normal dan homogen terlebih dahulu. Analisa dikerjakan dengan komputerisasi mengaplikasikan program SPSS.

HASIL

Tabel 1. Perbandingan Diameter Daya Hambat *Extra Virgin Olive Oil*

Sampel	Diameter Daya Hambat (mm)					
	Kontrol Positif (Penicilin)	Kontrol Negatif (Air)	0,5ml	1ml	2ml	3ml
I	29,3	0	5,9	7,7	14,5	15,9
II	29,5	0	6,2	7,6	13,7	14,2
III	28,2	0	5,7	8,2	12,8	13,7
IV	27,9	0	6,3	8,3	13,6	12,9
V	28,9	0	6,2	7,9	12,4	15,1
Rerata	28,8	0	6,1	7,9	13,4	14,4

Tabel 2. Uji One Way ANOVA

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
Between Groups	165666.318	4	41416.579	1.400E4	.000
Within Groups	44.365	15	2.958		
Total	165710.683	19			

Masing-masing sampel pada penelitian ini diberikan perlakuan serta dosis yang sama. Berdasarkan tabel 1 terlihat bahwa pada 5 sampel pada kontrol negatif tidak ditemukan pertumbuhan bakteri. Diameter daya hambat dari EVOO berkisar antara 6,1-14,4 mm. Diameter hambat sempit berada pada dosis 0,5 ml dan diameter hambat terlebar pada dosis 3 ml. Diameter hambat ini ditunjukkan dari area bening yang terlihat pada media dibandingkan sekitarnya. Area bening menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*. Klasifikasi daya hambat antibakteri menurut Morales (2003) yaitu: <5 mm lemah, <10 mm sedang, <20 mm kuat dan >20 mm sangat kuat. Tabel 2 merupakan hasil uji analisa statistik

menggunakan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai p value 0,000.

PEMBAHASAN

Secara umum hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter daya hambat yang terbentuk berbanding lurus dengan nilai dosis EVOO yang diberikan. Semakin besar dosis EVOO yang diberikan maka akan semakin luas juga diameter daya hambat yang dihasilkan. Diameter daya hambat pada EVOO dosis 0,5 ml dan 1 ml termasuk memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang, sedangkan EVOO dosis 2 ml dan 3 ml termasuk memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Hasil pada tabel 1 menunjukkan bahwa rerata diameter daya hambat pada kontrol positif (penicilin) berada pada 28,8 mm sedangkan pada EVOO dosis 3 ml berada pada 14,4 mm. Hasil ini mengindikasikan bahwa EVOO dapat menjadi salah satu alternatif untuk antibakteri.. Aktivitas antibakteri ini terbentuk karena EVOO mengandung senyawa oleuropein, flavonoid dan minyak atsiri. Oleuropein yang terkandung dalam EVOO akan meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma pada *Streptococcus agalactiae* sehingga akan menginduksi bocornya komponen intraseluler yang memicu koagulasi dan berakhir dengan lisisnya sel dari bakteri tersebut (Jimenez-Lopez et al., 2020) (Qabaha et al., 2018). Kandungan flavonoid berperan dalam membangun senyawa kompleks bersama protein ekstraseluler yang dapat memicu rusaknya membran dari bakteri (Xie et al., 2015) (Farhadi et al., 2019). Sedangkan minyak atsiri bekerja dengan mengusik proses pembentukan membran sel yang berakibat pada ketidaksempurnaan dari bakteri *Streptococcus agalactiae* tersebut (Geromichalou & Geromichalos, 2022) (Tejada et al., 2016) (de Melo et al., 2016).

Penelitian terkait bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan metode difusi cakram sebelumnya pernah dilakukan dengan menggunakan ekstrak biji pepaya yang terbukti memiliki aktifitas antibakteri karena mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, saponin

serta terpenoid (Syafriana et al., 2016). Analisa data secara statistik menunjukkan bahwa data yang didapatkan terdistribusi normal dengan nilai sig sebesar 0,378 dengan uji *Kolmogorof-Smirnov*. Sedangkan nilai sig 0,214 dari uji homogenitas. Didapatkan p value 0,000 dari Uji *One-Way Anova*, nilai ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah bakteri *Streptococcus agalactiae* dari masing-masing dosis yang ditetapkan. Uji korelasi menunjukkan nilai sig 0,000 dan nilai koefisien = -726. Berdasarkan nilai tersebut dapat dinyatakan bahwa peningkatan dosis EVOO akan menyebabkan berkurangnya jumlah bakteri *Streptococcus agalactiae*. Mengacu dari hasil penelitian ini, peneliti menyarankan untuk dikembangkan penelitian lanjutan terkait efektivitas EVOO pada *streptococcus agalactiae* secara in vivo sebagai upaya pengembangan pemanfaatan bahan herbal sebagai bahan baku pengobatan di Indonesia.

KESIMPULAN

Extra Virgin Olive Oil (EVOO) mempunyai aktivitas antibakteri dengan kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada dosis 2 ml dan 3 ml dengan rerata diameter daya hambat 12,4-15,9 mm.

REFERENSI

Åhman, J., Matuschek, E., & Kahlmeter, G. (2022). Evaluation of ten brands of pre-poured Mueller-Hinton agar plates for

- Eucast disc diffusion testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(11), 1499.e1-1499.e5.
<https://doi.org/10.1016/J.CMI.2022.05.030>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
<https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2015.11.005>
- Bolukaoto, J. Y., Monyama, C. M., Chukwu, M. O., Lekala, S. M., Nchabeleng, M., Maloba, M. R. B., Mavengwa, R. T., Lebelo, S. L., Monokoane, S. T., Tshepuwane, C., & Moyo, S. R. (2015). Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women in Garankuwa, South Africa. *BMC Research Notes*, 8(1), 6–12.
<https://doi.org/10.1186/s13104-015-1328-0>
- Bulotta, S., Celano, M., Lepore, S. M., Montalcini, T., Pujia, A., & Russo, D. (2014). Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Translational Medicine*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/S12967-014-0219-9>
- de Melo, S. C. C. S., Costa, A. B., da Silva, F. T. R., Silva, N. M. M. G., Tashima, C. M., Cardoso, R. F., de Pádua, R. A. F., Previdelli, I., Carvalho, M. D. de B., & Pelloso, S. M. (2018). Prevalence of *Streptococcus agalactiae* colonization in pregnant women from the 18th Health Region of Paraná State. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 60(November 2017), 2–7.
<https://doi.org/10.1590/s1678-9946201860002>
- de Melo, S. C. C. S., Santos, N. C. De S., De Oliveira, M., Scodro, R. B. De L., Cardoso, R. F., Pádua, R. A. F., Silva, F. T. R., Costa, A. B., Carvalho, M. D. De B., & Pelloso, S. M. (2016). Antimicrobial Susceptibility Of *Streptococcus Agalactiae* Isolated From Pregnant Women. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 58(1), 2–5.
<https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658083>
- do Nascimento, C. S., dos Santos, N. F. B., Ferreira, R. C. C., & Taddei, C. R. (2019). *Streptococcus agalactiae* in pregnant women in Brazil: prevalence, serotypes, and antibiotic resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(4), 943–952.
<https://doi.org/10.1007/S42770-019-00129-8/Metrics>
- Donadio, G., Mensitieri, F., Santoro, V., Parisi, V., Bellone, M. L., De Tommasi, N., Izzo, V., & Piaz, F. D. (2021). Interactions with microbial proteins driving the antibacterial activity of flavonoids. *Pharmaceutics*, 13(5), 660.

- <https://doi.org/10.3390/Pharmaceutics13050660/S1>
- Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iranshahi, M. (2019). Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. *Phytotherapy Research*, *33*(1), 13–40. <https://doi.org/10.1002/PTR.6208>
- Genovese, C., D’Angeli, F., Di Salvatore, V., Tempera, G., & Nicolosi, D. (2020). *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: serotype and antimicrobial susceptibility patterns over five years in Eastern Sicily (Italy). *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *39*(12), 2387–2396. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03992-8>
- Geromichalou, E. G., & Geromichalos, G. D. (2022). In Silico Approach for the Evaluation of the Potential Antiviral Activity of Extra Virgin Olive Oil (EVOO) Bioactive Constituents Oleuropein and Oleocanthal on Spike Therapeutic Drug Target of SARS-CoV-2. *Molecules*, *27*(21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217572>
- Gupta, A., Mumtaz, S., Li, C. H., Hussain, I., & Rotello, V. M. (2019). Combatting antibiotic-resistant bacteria using nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, *48*(2), 415–427. <https://doi.org/10.1039/C7CS00748E>
- Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., M. Lorenzo, J., Barba, F. J., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. *Foods*, *9*(8). <https://doi.org/10.3390/foods9081014>
- Perez-Gavilan, A., de Castro, J. V., Arana, A., Merino, S., Retolaza, A., Alves, S. A., Francone, A., Kehagias, N., Sotomayor-Torres, C. M., Cocina, D., Mortera, R., Crapanzano, S., Pelegrín, C. J., Garrigos, M. C., Jiménez, A., Galindo, B., Araque, M. C., Dykeman, D., Neves, N. M., & Marimón, J. M. (2021). Antibacterial activity testing methods for hydrophobic patterned surfaces. *Scientific Reports 2021 11:1*, *11*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85995-9>
- Qabaha, K., Al-Rimawi, F., Qasem, A., & Naser, S. A. (2018). Oleuropein Is Responsible for the Major Anti-Inflammatory Effects of Olive Leaf Extract. <https://Home.Liebertpub.Com/Jmf>, *21*(3), 302–305. <https://doi.org/10.1089/JMF.2017.0070>
- Raabe, V. N., & Shane, A. L. (2019). Group b streptococcus (streptococcus agalactiae). *Gram-Positive Pathogens*, *11*, 228–238. <https://doi.org/10.1128/9781683670131.ch14>
- Rahardjo, B; Rahmawati, W; Rahasti, A;

- Retnaningrum, D.N; Sujuti, H. N. A. R. (2020). Effect of Evoo on Mda, Adma and no Level in Rattus Norvegicus Pre-Eclampsia Model. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 11(3), 1874–1880.
<http://medicopublication.com/index.php/ijphrd/article/view/2197>
- Rahardjo, B., Rahmawati, W., Rahasti, A., Retnaningrum, D. N., Sujuti, H., As, N., & Raras, T. Y. M. (2020). The effect of extra virgin olive oil to decrease HSP-90, TNF- α and ET-1, in pre-eclampsia rat model. *Journal of Global Pharma Technology*, 12(1).
- Savini, V., Marrollo, R., D'Antonio, M., D'Amario, C., Fazii, P., & D'Antonio, D. (2013). Streptococcus agalactiae vaginitis: Nonhemolytic variant on the Liofilchem® Chromatic StreptoB. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(8), 1693–1695.
- Shabayek, S. (2022). Streptococcus agalactiae (Group B Streptococcus). *Molecular Typing in Bacterial Infections, Volume I: Second Edition*, 1(11), 167–189.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-74018-4_8
- Sharma, V. K., Johnson, N., Cizmas, L., McDonald, T. J., & Kim, H. (2016). A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere*, 150, 702–714.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 1–20.
<https://doi.org/10.1186/S12951-017-0308-Z/FIGURES/1>
- Summerhill, V., Karagodin, V., Grechko, A., Myasoedova, V., & Orekhov, A. (2018). Vasculoprotective Role of Olive Oil Compounds via Modulation of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5(December), 1–10.
- Tejada, S., Pinya, S., Mar Bibiloni, M. del Tur, J. A., Pons, A., & Sureda, A. (2016). Cardioprotective Effects of the Polyphenol Hydroxytyrosol from Olive Oil. *Current Drug Targets*, 18(13).
<https://doi.org/10.2174/1389450117666161005150650>
- V.Syafriana, R.D.Rentiana, & Poeloengan, dan M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Dan Biji Pepaya (Caricapapaya L.) Terhadap Streptococcus Agalactiae. *Fakultas Farmasi, Institut Sains Dan Teknologi Nasional, Jakarta*, 9(2), 19–22.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2015). Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132-149(18).