

Artikel Penelitian

Korelasi Resistensi Antimikroba dengan Biofilm Pada Isolat *P. Aeruginosa* dari Sampel Sputum ETTsss di ICU RSSA

Correlation Between Antimicrobial Resistance and Biofilm of *P. aeruginosa* Isolates from Sputum ETT in the ICU of RSSA

Lydia Trisnawati¹, Etty Fitria Ruliatna¹, Yuyun Kusnaningrum²

¹ Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

² Instalasi Mikrobiologi Klinik, RSUD Dr. Saiful Anwar

Diterima 15 April 2025; direvisi 10 Juni 2025; publikasi 25 Februari 2026

INFORMASI ARTIKEL

Penulis Koresponding:

Etty Fitria Ruliatna

Departemen Mikrobiologi Klinik,
Fakultas Kedokteran Universitas
Brawijaya

Email: ettyruliatna@ub.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: *P. aeruginosa* merupakan penyebab utama infeksi nosokomial dan pembentuk *biofilm* kuat. Resistensi antimikroba dan pembentukan *biofilm* menjadi dua faktor penting yang meningkatkan virulensi. Di RSSA, pada tahun 2023 insiden VAP melebihi target pencapaian nasional, dan bakteri batang Gram negatif merupakan penyebab tersering.

Tujuan: Menilai hubungan antara kemampuan resistensi antimikroba dengan kemampuan membentuk *biofilm* dari isolat *P. aeruginosa* dari sampel sputum ETT.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain potong lintang. Sampel diambil dari sputum pasien yang menggunakan ETT di ruang ICU RSUD Dr. Saiful Anwar. Deteksi *biofilm* dilakukan menggunakan metode *microtiter plate*, dan uji resistensi dilakukan dengan metode otomatis Vitek 2.

Hasil: Dari 23 isolat *P. aeruginosa* MDR, 45,5% menunjukkan kemampuan membentuk *biofilm*, sedangkan 54,5% tidak. Uji *Chi Square* mengindikasikan bahwa tidak terdapat hubungan signifikan antara pola resistensi antimikroba dengan kemampuan membentuk *biofilm*.

Kesimpulan: Tidak ditemukan hubungan bermakna antara resistensi antimikroba dengan kemampuan membentuk *biofilm* pada isolat *P. aeruginosa* dari sputum ETT.

Kata Kunci: *Biofilm*; *P. aeruginosa*; Resistensi antimikroba; Sputum ETT; ICU.

ABSTRACT

Background: *P. aeruginosa* is a prominent pathogen responsible for hospital-acquired infections and as strong *biofilm* producer. Its pathogenic potential is primarily driven by antimicrobial resistance and the ability to form *biofilms*. The target for VAP incidence at RSSA on 2023 exceed the national limit, and Gram negative rod bacteria are the most common cause.

Aim: To examine the correlation between antimicrobial resistance patterns and the *biofilm*-forming ability of *P. aeruginosa* isolated from endotracheal tube (ETT) sputum specimens.

Methods: This analytic cross-sectional study used sputum samples from ICU patients with ETT. *Biofilm* detection was done using the *microtiter plate* method, and antimicrobial susceptibility was tested using Vitek 2 system.

Results: Of the 23 multidrug-resistant (MDR) isolates identified, 45.5% demonstrated *biofilm*-forming ability, while 54.5% did not. Statistical analysis using the Chi-square test revealed no significant association between antimicrobial resistance and *biofilm* formation.

Conclusion: There was no significant correlation between multidrug resistance and *biofilm* production in *P. aeruginosa* isolates from ETT sputum samples.

Keywords: *Biofilm*; *P. aeruginosa*; Antimicrobial resistance; Sputum ETT; ICU



PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba (AMR) merupakan ancaman global serius bagi kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan. Diperkirakan pada tahun 2050, AMR akan menjadi penyebab utama kematian dengan estimasi 10 juta kematian per tahun. Salah satu faktor yang mendukung resistensi ini adalah kemampuan bakteri membentuk *biofilm*¹.

Biofilm adalah komunitas bakteri yang melekat pada permukaan dan dilindungi oleh matriks ekstraseluler (EPS). Struktur ini memberikan perlindungan terhadap tekanan lingkungan, termasuk antibiotik². Di rumah sakit, *biofilm* banyak ditemukan pada alat medis seperti *endotracheal tube* (ETT), yang umum digunakan pada pasien dengan ventilasi mekanik. ETT merupakan salah satu lingkungan potensial terbentuknya *biofilm* dan menjadi sumber infeksi seperti *ventilator-associated pneumonia* (VAP)³.

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif yang umum diisolasi dari pasien dengan *ventilator-associated pneumonia* (VAP) dan dikenal memiliki kemampuan tinggi membentuk *biofilm* serta resistensi terhadap berbagai antibiotik. Bakteri ini beradaptasi dengan cepat dan memiliki berbagai faktor virulensi, termasuk flagela, pili, dan eksopolisakarida. Infeksi oleh *P. aeruginosa*, khususnya strain *multi-drug-resistant* (MDR), berkontribusi besar terhadap morbiditas, mortalitas, dan kegagalan terapi di ICU^{2,4,5}.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *biofilm* berperan dalam peningkatan resistensi antimikroba. Namun, hubungan antara keduanya masih belum jelas dan bervariasi antar studi. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui apakah ada hubungan antara resistensi antimikroba dan kemampuan membentuk *biofilm*, khususnya pada isolat *P. aeruginosa* dari ETT pasien ICU.

Tujuan dari penelitian ini adalah

untuk mengetahui korelasi antara resistensi antimikroba dengan kemampuan membentuk *biofilm* pada isolat *P. aeruginosa* dari sampel sputum ETT di ruang rawat intensif.

METODE

Penelitian ini merupakan studi observasional analitik dengan pendekatan potong lintang. Proses penelitian dilaksanakan di Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Saiful Anwar Malang dalam kurun waktu yang telah ditetapkan. Penelitian ini juga telah lulus dari bebas kaji etik dengan nomor: 322/EG/KEPK-PSPDS/09/2024. Subjek penelitian adalah isolat *P. aeruginosa* yang diperoleh dari sampel sputum pasien dewasa dengan *endotracheal tube* (ETT) yang dirawat di ruang ICU.

Sampel diambil secara *consecutive sampling*. Kriteria inklusi adalah isolat *P. aeruginosa* dari sputum pasien dengan ETT yang telah memenuhi syarat klinis dan laboratoris. Isolat dari sputum ETT kualitas tidak baik atau data tidak lengkap dikeluarkan dari penelitian.

Kemampuan membentuk *biofilm* diuji menggunakan metode *microtiter plate*⁶. Suspensi bakteri disiapkan di *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang ditambahkan dengan 1% glukosa (*Tryptic Soy Broth glucosa*, TSB *glu*) dan dengan konsentrasi 0,5 McFarland (1.10^8 cfu/ml), kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Kemudian 100 µL dipindahkan ke *microplate*. *Microplate* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan pembilasan dengan *phosphate buffered saline* (PBS). *Biofilm* dapat difiksasi dengan 150 µL metanol selama 20 menit atau dikeringkan pada suhu 60°C selama 1 jam. *Biofilm* yang terbentuk di dinding *microplate* itu kemudian diwarnai dengan 150 µL kristal violet selama 15 menit, kemudian

dibilas dengan aquades sebanyak 2 kali kemudian diangin-anginkan hingga kering. *Biofilm* yang terwarnai di dinding kemudian diberi 33% *glacial acetic acid* selama 10 menit. Kemudian dibaca dengan *microplate reader* pada gelombang 630 nm dengan ELISA *microtiter plate reader*. Penghitungan *optical density* (OD) kemudian dilakukan untuk menentukan apakah isolat tersebut tidak membentuk *biofilm*, membentuk *biofilm* lemah, kuat dan sedang⁶.

Resistensi antimikroba diuji menggunakan alat otomatis Vitek 2 (bioMérieux), dan hasil diklasifikasikan berdasarkan kriteria multidrug-resistant (*MDR*). Analisis hubungan antara kemampuan membentuk *biofilm* dan resistensi antimikroba dilakukan menggunakan uji *Chi Square* dengan

tingkat signifikansi $p < 0,05$.

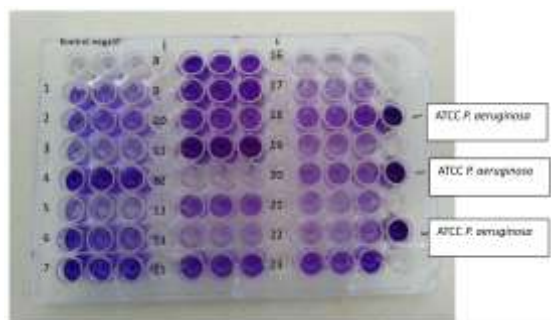
HASIL

Sebanyak 23 isolat *P. aeruginosa MDR* diperoleh dari sputum pasien dengan *ETT* di ruang perawatan intensif RSUD Dr. Saiful Anwar. Dari jumlah tersebut, sebanyak 10 isolat (45,5%) memiliki kemampuan membentuk *biofilm*, sedangkan 13 isolat (54,5%) tidak menunjukkan pembentukan *biofilm* berdasarkan pembacaan OD menggunakan metode *microtiter plate*.

Uji *Chi Square* menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara pola resistensi antimikroba dan kemampuan pembentukan *biofilm* pada isolat *P. aeruginosa* ($p > 0,05$). Ini menunjukkan bahwa status *MDR* tidak berkorelasi dengan peningkatan kemampuan pembentukan *biofilm*.

Tabel 1. Hubungan Antara *MDR* dan Kemampuan Membentuk *Biofilm* pada Isolat *P. aeruginosa*

<i>MDR Status</i>	Membentuk <i>Biofilm</i>	Tidak Membentuk <i>Biofilm</i>	Total
Ya	5 (45,5%)	6 (54,5%)	11
Tidak	5 (41,7%)	7 (58,3%)	12
Total	10	13	23



Gambar 1. Hasil uji *biofilm* dengan metode *microtiter plate*

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa tidak ada korelasi yang signifikan antara resistensi antimikroba dan kemampuan membentuk *biofilm* pada isolat *P. aeruginosa* yang diperoleh dari sputum *ETT*. Sebagian isolat *MDR* justru tidak membentuk *biofilm*, dan sebaliknya, beberapa isolat non-*MDR* mampu membentuk *biofilm*.

Temuan dalam penelitian ini sejalan dengan laporan yang dipublikasikan oleh Thi *et al*, 2020⁷, yang menyebutkan bahwa *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang dapat hidup dan menempel di berbagai macam permukaan dan membentuk *biofilm*. *P. aeruginosa* diketahui sebagai pembentuk *biofilm* yang kuat sehingga merupakan bakteri yang sangat baik untuk dipelajari pembentukan *biofilm*nya^{7,8}. Ada banyak mekanisme intrinsik resisten dan resistensi didapat (*acquired resistance*) yang dapat dieksploitasi oleh *P. aeruginosa*, termasuk dan tidak hanya dibatasi oleh inaktivasi antibiotik, modifikasi target obat, gangguan pada permeabilitas membran, ekspresi dari sistem efluks, pembentukan *biofilm* dan *quorum sensing* (*QS*) yang mempengaruhi kepekaan antibiotik. *P.*

aeruginosa juga dibekali dengan macam-macam faktor virulensi seperti *flagella*, pili dan LPS yang berpengaruh pada perlekatan atau kolonisasi pada penjamu, adanya sistem sekresi yang mentransport efektor dan toxin ke pejamu, protease dan toxin yang menyebabkan kerusakan jaringan, serta QS dan *biofilm* yang memfasilitasi komunikasi antar bakteri dan resistensi obat⁸.

Hasil penelitian ini konsisten dengan beberapa studi sebelumnya yang juga tidak menemukan hubungan langsung antara pembentukan *biofilm* dan pola resistensi antimikroba, menunjukkan bahwa *biofilm* bukan satu-satunya mekanisme yang menyebabkan resistensi⁹. Resistensi pada *P. aeruginosa* juga dipengaruhi oleh mekanisme lain seperti inaktivasi antibiotik, modifikasi target obat, gangguan pada permeabilitas membran, ekspresi dari sistem efluks, pembentukan *biofilm* dan QS yang mempengaruhi kepekaan antibiotik. *P. aeruginosa* juga dibekali dengan macam-macam faktor virulensi seperti *flagella*, pili dan LPS yang berpengaruh pada perlekatan atau kolonisasi pada penjamu, adanya sistem sekresi yang mentransport efektor dan toxin ke pejamu, protease dan toxin yang menyebabkan kerusakan jaringan, serta QS dan *biofilm* yang memfasilitasi komunikasi antar bakteri dan resistensi antimikroba^{7,8}.

Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Karami *et al*, 2019¹⁰ ada perbedaan, dimana pada penelitian tersebut juga dilakukan uji korelasi pada pembentukan *biofilm* dan korelasinya terhadap resistensi antibiotik, didapatkan bahwa ada hubungan antara MDR dengan pembentukan *biofilm* dengan $P = 0,00$. Pada penelitian yang dilakukan, disebutkan pembentukan *biofilm* menyebabkan berkurangnya sensitivitas antibiotik dan digunakan konsentrasi antibiotik yang lebih tinggi pada isolat tersebut. Pada penelitian oleh Karami *et al*, 2019¹⁰, Ochoa *et al*, 2015¹¹ juga melakukan penelitian tidak hanya menggunakan

fenotipik saja namun juga diteliti secara genotipik, sehingga pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan penelitian fenotipik sehingga mengurangi bias yang ada.

Namun demikian, *biofilm* tetap merupakan faktor penting dalam patogenesis infeksi kronis karena struktur EPS-nya dapat menghambat penetrasi antibiotik dan melindungi bakteri dari fagositosis. Kombinasi antara MDR dan *biofilm* berpotensi memperberat penanganan klinis bila keduanya hadir bersamaan^{1,2}.

Perbedaan hasil dengan studi lain dapat disebabkan oleh variasi metode deteksi *biofilm*, jenis antibiotik yang diuji, kondisi inkubasi, atau populasi isolat yang diteliti. Untuk mendapatkan pemahaman mendalam mengenai relasi ini, disarankan agar penelitian berikutnya mencakup jumlah sampel yang lebih besar serta menerapkan pendekatan molekuler.

Pada penelitian ini ada beberapa keterbatasan. Penelitian hanya meneliti secara fenotipik dan tidak melihat faktor kontributor lain dari *P. aeruginosa* seperti eksopolisakarida (Pel, Psl dan Alginat) serta gen yang mempengaruhi QS. Beberapa penelitian menunjukkan penelitian *biofilm* dengan menggunakan selang ETT lebih menjanjikan hasil yang lebih baik^{10,11}.

Penulis menyatakan tidak ada kepentingan pribadi, komersial maupun politik terkait penerbitan tulisan ini.

SIMPULAN

Penelitian ini mengungkap bahwa, pada isolat *P. aeruginosa* yang diperoleh dari sampel sputum ETT di ruang rawat intensif RSUD Dr. Saiful Anwar, tidak ditemukan korelasi signifikan antara tingkat resistensi terhadap antimikroba dan kapasitas pembentukan *biofilm*. Temuan ini mengindikasikan bahwa resistensi antibiotik pada *P. aeruginosa* tidak selalu berkaitan dengan kemampuan membentuk *biofilm*. *P. aeruginosa* baik itu yg MDR maupun non MDR

mempunyai kemampuan yang sama dalam membentuk *biofilm*

Dianjurkan agar penelitian mendatang melibatkan jumlah sampel yang lebih besar dan penerapan pendekatan molekuler, sehingga mekanisme resistensi dan pembentukan *biofilm* dapat dipahami secara menyeluruh. Selain itu, penting untuk terus memantau dan mengendalikan penggunaan antibiotik serta memperkuat strategi pencegahan infeksi di ICU.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih atas dukungan fasilitas dan bantuan teknis yang diberikan oleh Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya serta Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Saiful Anwar selama penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada setiap pihak yang telah berkontribusi, meskipun tidak dapat disebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tang K, Millar B, Moore J. Antimicrobial Resistance (AMR). Br J Biomed Sci. 2023. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>
2. Rather M, Gupta K, Mandal M. Microbial biofilm: Formation, resistance, and control. Braz J Microbiol. 2021;52:1701–18.
3. Thorarinsdottir H, Kander T, et al. Biofilm formation on endotracheal tubes: A clinical trial. Crit Care. 2020;24:382. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03092-1>
4. Li Y, Roberts JA, Walker MM, et al. Global epidemiology of VAP caused by MDR *P. aeruginosa*: A systematic review. Int J Infect Dis. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.11.023>
5. Abebe G. The role of bacterial biofilm in antibiotic resistance and food contamination. Int J Microbiol. 2020; Article ID 1705814. <https://doi.org/10.1155/2020/1705814>
6. Abbas H, Serry FM, Masry EM. Combating *P. aeruginosa* biofilm by potential biofilm inhibitors. Asian Pharma Press. 2012;2(2):66–72.
7. Thi M, Wibowo D, Rehm B. *P. aeruginosa* biofilms. Int J Mol Sci. 2020;21(22):8671. <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
8. Liao C, Huang X, Wang Q, et al. Virulence factors of *P. aeruginosa* and antivirulence strategies. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:926758. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.926758>
9. Haidar A, Muazzam A, Nadeem A, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance in *P. aeruginosa*. The Microbes. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100078>
10. Karami P, Khaledi A, Mashoof R, et al. Correlation between biofilm formation capability and antibiotic resistance in *P. aeruginosa*. Gene Rep. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100561>
11. Ochoa S, Cordova A, Rodea G, et al. Characterization of MDR *P. aeruginosa* from pediatric patients and biofilm formation. Microbiol Res. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2014.11.005>