

PENGARUH BAHAN *Endotracheal Tube* (ETT) TERHADAP PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Muhammad Asyrofil Alqob, Yoyon Arif Martino¹, Rio Risandiansyah^{2#}

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

²Pusat Studi Integrasi Kedokteran Islam, Bioinformatika, dan Obat Tradisional Indonesia (PSIKIBiOTI)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Endotracheal Tube* (ETT) adalah salah satu jenis alat medis berbentuk tabung yang berfungsi untuk membuka jalan napas pada pasien dalam keadaan tidak sadar. Perkembangan infeksi saluran napas terjadi pada paru paru atau dikenal sebagai *Ventilator Associated Pneumonia* (VAP). Salah satu bakteri penyebab VAP adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang membentuk biofilm pada permukaan ETT. Bahan ETT *Polyvinylchloride* (PVC) dan silikon menjadi salah satu pemicu terbentuknya biofilm. Namun, Pada penelitian ini belum banyak diteliti. Sehingga perlu dilakukan penelitian tentang perbedaan bahan ETT terhadap pembentukan biofilm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Metode: Penelitian eksperimental *in vitro* pembentukan biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan pada permukaan ETT bahan PVC dan silikon. Pembentukan biofilm diukur dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dan *Crystal Violet* (CV) yang kemudian dilakukan perbandingan pada hasilnya. Pada metode TPC diukur dengan menghitung jumlah koloni pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan nilai satuan Log CFU/ml. Pada metode CV dilakukan pengukuran absorbansi warna dari biofilm pada Panjang gelombang 585 nm. Data dianalisa dengan uji *Mann Whitney* dan ($p < 0,05$) dianggap signifikan.

Hasil dan Pembahasan: Hasil TPC pada ETT berbahan PVC dan silikon $5,72 \pm 0,38$ dan $5,59 \pm 0,48$ Log CFU/ml; hasil absorbansi CV pada PVC dan silikon $0,28 \pm 0,15$ dan $0,22 \pm 0,17$. Hal ini menunjukkan jumlah koloni pada ETT berbahan PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan dan hasil absorbansi CV, pada bahan PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Simpulan: Tidak ada perbandingan signifikan antara bahan ETT PVC dan Silikon dalam pembentukan biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: Bahan ETT, *Pseudomonas aeruginosa*, TPC, CV

#Korespondensi:

Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

THE EFFECT OF *Endotracheal Tube* (ETT) MATERIALS ON THE FORMATION OF *Pseudomonas aeruginosa* BACTERIAL BIOFILM

Muhammad Asyrofil Alqob, Yoyon Arif Martino¹, Rio Risandiansyah^{2#}

¹ Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

² Center for the Integration of Islamic Medicine, Bioinformatics, and Indonesian Traditional Medicine (CIIMBITM)

ABSTRACT

Background: An endotracheal tube (ETT) is a tube-shaped medical device used to open the airway in unconscious patients. Respiratory tract infections develop in the lungs, known as ventilator-associated pneumonia (VAP). One of the bacteria that causes VAP is *Pseudomonas aeruginosa*, which forms a biofilm on the surface of the ETT. Polyvinylchloride (PVC) and silicone ETT materials are among the triggers for biofilm formation. However, this has not been widely studied. Therefore, research is needed to determine the effect of different ETT materials on biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

Methods: In vitro experimental research on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* bacterial biofilms was conducted on the surface of PVC and silicone ETTs. Biofilm formation was measured using the Total Plate Count (TPC) and Crystal Violet (CV) methods, and then compared. In the TPC method, the number of colonies on Nutrient Agar (NA) media was measured in Log CFU/ml units. In the CV method, the color absorbance of the biofilm was measured at a wavelength of 585 nm. Data were analyzed using the Mann Whitney test and ($p < 0.05$) was considered significant.

Results and Discussion: The TPC results on ETT made of PVC and silicone were 5.72 ± 0.38 and 5.59 ± 0.48 Log CFU/ml; the CV absorbance results on PVC and silicone were 0.28 ± 0.15 and 0.22 ± 0.17 . This shows that the number of colonies on ETT made of PVC and silicone did not have a significant difference and the CV absorbance results on PVC and silicone materials did not have a significant difference.

Conclusion: There is no significant comparison between PVC and silicone ETT materials in the formation of *Pseudomonas aeruginosa* bacterial biofilms.

Keywords: ETT material, *Pseudomonas aeruginosa*, TPC, CV

#Corresponding author:

Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia 65144

PENDAHULUAN

Endotracheal tube (ETT) merupakan alat medis yang digunakan dengan indikasi pasien dalam gangguan pada saluran pernapasan. Penggunaan ETT yang berkepanjangan akan menyebabkan *Ventilator Associated Pneumonia (VAP)* (1). *Pneumonia* terkait ventilator (VAP) adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan pneumonia (infeksi paru-paru) yang berkembang pada pasien yang telah menggunakan ventilasi mekanik selama lebih dari 48 jam (2).

Salah satu bakteri penyebab Ventilator Associated Pneumonia (VAP) adalah *Pseudomonas aeruginosa* dengan prevalensi 33% dari 7.951 kasus di berbagai negara (3). Infeksi pneumonia terkait ventilator seringkali bersifat polimikroba dengan isolat bakteri umum dari infeksi termasuk *Pseudomonas aeruginosa* (24%) (4). Pada penggunaan endotracheal tube (ETT), sekitar 25–56% pasien yang diintubasi dapat mengalami VAP akibat kolonisasi bakteri pada permukaan alat yang kemudian berkembang menjadi biofilm (5). Biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* tersusun atas matriks zat polimer ekstraseluler (EPS) yang terdiri dari polisakarida, DNA ekstraseluler (eDNA), protein, dan lipid, yang berperan dalam perlekatan bakteri pada permukaan ETT (6). Bahan endotracheal tube (ETT) umumnya terbuat dari PVC (polyvinyl chloride) dan silikon, di mana adhesi bakteri pada material tersebut dipengaruhi oleh sifat fisikokimia bakteri dan permukaan yang menentukan kemampuan melekat pada ETT (7).

Perbedaan bahan ETT dapat menyebabkan variasi tingkat adhesi bakteri serta pembentukan biofilm pada permukaan ETT. Penelitian sebelumnya telah menguji pembentukan biofilm pada ETT berbahan PVC dengan pelapisan tertentu, namun belum membandingkannya dengan bahan silikon. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan membandingkan kuantifikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai bahan ETT menggunakan metode Total Plate Count (TPC) dan Crystal Violet (CV).

METODE

Desain Penelitian

Penelitian eksperimental yang menguji kuantifikasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada permukaan ETT PVC dan silikon, dengan menggunakan jumlah *Colony Forming Unit* dan *absorbansi Crystal violet*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas kedokteran, Universitas Islam Malang pada bulan Agustus-September 2025.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu pada ETT yang baru dan steril. ETT yang digunakan memiliki dua bahan yaitu PVC dan Silikon. ETT dipotong bagi dua dengan potongan melintang setengah lingkaran. Potongan ETT diukur kurang lebih 1 cm².

Kegiatan Pra Penelitian

Endotracheal Tube (ETT) berbahan PVC dan silikon dalam sedian steril dipotong sebesar ± 1 cm² di dalam *Laminar Air Flow (LAF)*. Potongan ETT ditanam pada media Broth Heart Brain Infusion (BHIB) + sukrosa 5% sebanyak 4 ml dan ditambahkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah distandarisasi dengan standar McFarland 0,5 (10⁸ CFU/mL) lalu diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam.

Kegiatan saat Penelitian

Kuantifikasi Bakteri Viabel Menggunakan TPC

Potongan ETT yang telah melalui proses inkubasi diambil lalu dimasukkan ke dalam microtube berukuran 2 ml yang berisi 1 ml larutan Normal Saline (NS) steril. Selanjutnya, sampel dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit pada kecepatan maksimum, diikuti proses sonikasi pada frekuensi 50 Hz selama 50–60 detik, setelah itu divortex kembali selama 1 menit. Setiap microtube diencerkan 1/10, 1/100, 1/1.000, dan 1/10.000. Hasil pengenceran diambil menggunakan kapas lidi steril, lalu digoreskan (streak) pada media *Nutrient Agar (NA)*. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, jumlah koloni dihitung dalam satuan CFU/ml menggunakan rumus: CFU/ml (g) = jumlah koloni / jumlah sampel yang diinokulasikan. Percobaan dilakukan dengan tiga kali ulangan pada tiga hari yang berbeda (n = 9) (21).

Kuantifikasi Biofilm Secara Indirek

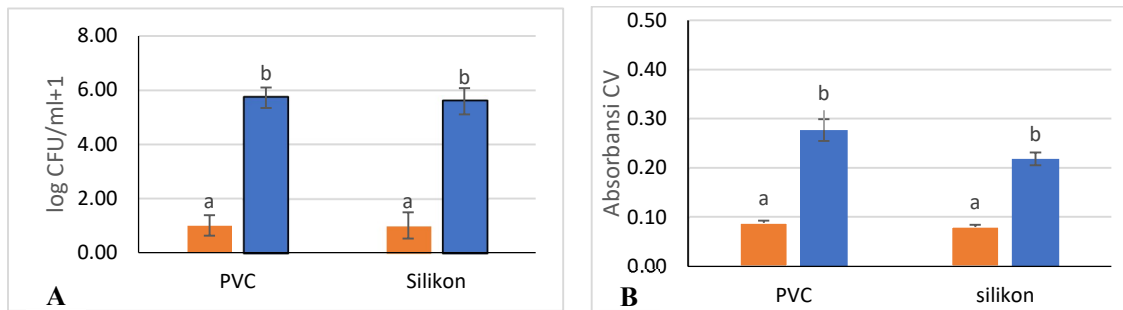
Potongan ETT yang sudah diinkubasi lalu dibilas dengan PBS sebanyak 2 ml dengan pH 7,2 selama 1 kali untuk menghilangkan *planktonic*. Kemudian diberikan metanol 96% sebanyak 2 ml selama 10 menit lalu metanol disingkirkan, dan di bilas kembali dengan PBS 1 kali sebanyak 2 ml. Kemudian dibuang, lalu di tambahkan CV 0,1% sebanyak 2 ml dan diamkan selama 10 menit dan di bilas dengan PBS 2 kali, kemudian masukan asam asetat 33 % sebanyak 2 ml dan diamkan selama 10 menit untuk melakukan fiksasi bakteri dan biofilm pada ETT, serta melarutkan CV. Kemudian, pindahkan ke dalam 96 *well plate* untuk dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 585 nm (21).

Kegiatan Akhir Penelitian

ETT didapatkan secara steril lalu dipotong dalam LAF. Kemudian, dimasukkan dalam tabung yang berisi media BHIB+sukrosa. Lalu diinkubasi selama kurang lebih 24 jam. Hasil dari inkubasi di strik pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu dihitung dengan metode TPC. Sedangkan pada Absorbansi CV, dilakukan pelepasan bakteri pada permukaan ETT dan dilakukan pewarnaan dengan Crystal Violet. Kemudian dimasukkan pada well plate 96 dan dibaca dengan spektrofotometer dengan Panjang gelombang 585 nm.

Analisa Data

Hasil data jumlah koloni (TPC) dan pewarnaan CV biofilm diuji normalitas dan homogenitas menggunakan SPSS versi 23.0. hasil data menunjukkan tidak normal maka dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.



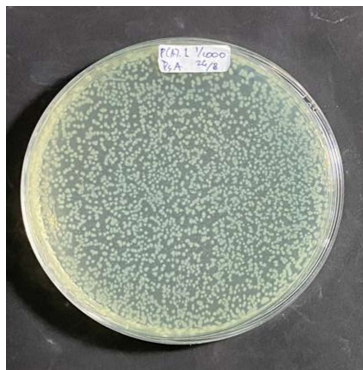
Gambar 1 Hasil kuantifikasi bakteri pada ETT bahan PVC dan silikon

Keterangan: A. log CFU/ml+1 pada bahan PVC menunjukkan nilai 5,72; sedangkan pada bahan silikon menunjukkan nilai 5,59; B. Hasil absorbansi CV pada bahan PVC menunjukkan nilai 0,27; pada bahan silikon menunjukkan nilai 0,21.

HASIL

Evaluasi Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* pada Media *Nutrient Agar* (NA)

Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Nutrient Agar* (NA), pertumbuhan bakteri koloni berbentuk bulat dengan permukaan mengkilat, dan pigmen kehijauan (pyoverdine) yang menyebar ke media (9). Ciri khas *Pseudomonas aeruginosa* adalah kemampuannya untuk mensintesis pigmen fenazin yang larut dalam air, yaitu pigmen piosianin dalam jumlah besar selama pertumbuhan aktif (17).



Gambar 2 Morfologi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Nutrient Agar* (NA)

Keterangan: Morfologi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media NA terlihat bakteri koloni berbentuk bulat dan pigmen kuning kehijauan pada media.

Hasil Kuantifikasi Jumlah Koloni Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Media *Nutrient Agar* (NA)

Perhitungan rata rata jumlah koloni pada ETT PVC dan silikon dilaporkan 6.802 dan 5.740 per cawan petri. Rata rata dalam CFU/mL dilaporkan 680,24 dan 574,022. Rata rata dalam satuan log CFU/ml dilaporkan 5,72 dan 5,59. Pada **Gambar 1a**, menunjukkan bahwa pada bahan ETT PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Pada kelompok kontrol negative, tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri (Log CFU/ml+1=0).

Hasil Kuantifikasi Nilai Absorbansi *Crystal Violet*

Berdasarkan **Gambar 1b**, hasil rata – rata nilai Absorbansi menunjukkan pembentukan biofilm pada bahan PVC 0,27; sedangkan pada bahan silikon

diapatkan nilai 0,21. Hal ini menunjukkan bahwa pada permukaan bahan ETT-PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Pada hasil rata rata kontrol negatif ETT PVC $\pm 0,088$, sedangkan pada bahan silikon $\pm 0,080$. Hal ini berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Kuantifikasi CFU/ml

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri menunjukkan bahwa nilai rata-rata Log CFU/ml pada bahan ETT PVC ($5,72 \pm 0,38$) dan silikon ($5,59 \pm 0,48$) tidak berbeda secara signifikan ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kedua bahan ETT memiliki kemampuan yang relatif sama dalam menempel/adhesi pada permukaan ETT, sehingga terbentuk koloni bakteri viabel. Dengan demikian, dari aspek kuantitas bakteri hidup, jenis bahan (PVC maupun silikon) tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap jumlah koloni yang terbentuk, sehingga keduanya memiliki potensi yang sebanding dalam kolonisasi bakteri. Hal ini berbeda dengan penelitian dari Thorarinsdottir, H. R *et al.* yang melakukan penelitian serupa, namun dilakukan secara klinis terhadap pasien.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Thorarinsdottir, H. R *et al.* Di University Hospital in Lund, Sweden, menunjukkan bahwa hasil ETT PVC tanpa lapisan memiliki pembentukan adhesi bakteri yang tinggi daripada ETT PVC lapis silikon dan lapisan logam (19). Pada kultur surveilans, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditemukan pada *Oropharyngeal Culture* (OPC) maupun *Endotracheal Aspirate* (ETA), meskipun jumlahnya tidak dominan dibandingkan mikroorganisme lain seperti *Candida*. Pada OPC, bakteri ini terdeteksi sebanyak 6 kasus (4,0%), sedangkan pada ETA ditemukan 5 kasus (3,9%). berkolonisasi baik di saluran napas atas maupun bawah pada pasien yang menggunakan ventilator, namun prevalensinya relatif lebih rendah dibandingkan flora mikroba lainnya (19).

Pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* strain klinis yang berasal dari pasien atau lingkungan rumah sakit menunjukkan kemampuan membentuk biofilm yang lebih kuat karena lebih mudah melekat pada permukaan dan menghasilkan matriks

ekstraseluler seperti alginat dalam jumlah lebih besar, sehingga biofilm menjadi lebih padat dan stabil. Selain itu, biofilm pada strain klinis cenderung lebih matang dan memberikan perlindungan yang lebih tinggi terhadap antibiotik serta respon imun, sehingga berkontribusi pada infeksi yang persisten. Sedangkan, pada strain non-klinis yang berasal dari lingkungan tetap mampu membentuk biofilm, tetapi hanya menghasilkan struktur yang lebih tipis, kurang kuat, dan lebih mudah terlepas karena produksi matriksnya lebih rendah dan tidak mengalami tekanan seleksi seperti pada kondisi klinis (15). Bakteri yang tumbuh dalam bentuk biofilm memiliki sifat dan perilaku yang berbeda dibandingkan dengan bakteri yang tumbuh bebas (planktonik). Perbedaan tersebut meliputi perubahan kemampuan bergerak, peningkatan produksi polisakarida ekstraseluler sebagai lapisan pelindung biofilm (8).

Kuantifikasi Absorbansi *Crystal violet*

Hasil pengukuran absorbansi *Crystal Violet* menunjukkan nilai rata-rata pada bahan PVC ($0,28 \pm 0,15$) dan silikon ($0,22 \pm 0,17$) dan tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Nilai ini menunjukkan jumlah biofilm yang terbentuk pada permukaan ETT. Dari aspek pembentukan biofilm, baik PVC maupun silikon sama-sama memungkinkan terbentuknya biofilm *Pseudomonas aeruginosa* dalam tingkat yang tidak berbeda signifikan. Dengan jenis bahan tidak berpengaruh secara nyata terhadap ketebalan atau jumlah biofilm yang terbentuk. berdasarkan jumlah koloni (CFU/ml) maupun biomassa biofilm (absorbansi *Crystal Violet*), tidak terdapat perbedaan signifikan antara bahan ETT PVC dan silikon. Hal ini menunjukkan bahwa adhesi dan pembentukan biofilm bakteri tetap terjadi tanpa dipengaruhi oleh jenis bahan ETT yang digunakan. Dan adhesi pada bakteri tetap terjadi pada ETT tanpa pengaruh bahan dari PVC dan silikon.

ETT bertindak sebagai reservoir bagi mikroorganisme penyebab infeksi, menyediakan permukaan yang optimal bagi mikroorganisme untuk menempel dan mengembangkan biofilm, yang dapat terjadi baik di permukaan luminal bagian dalam maupun luar (18). Biofilm merupakan komunitas kompleks berupa polisakarida, asam nukleat polimikroba yang terdiri dari mikroorganisme yang melekat pada suatu permukaan, dan terbungkus dalam matriks ekstraseluler, dan material biologis lainnya (10). Proses pembentukan biofilm oleh *Pseudomonas aeruginosa* dimulai dengan adhesi pada permukaan yang sesuai untuk pertumbuhan termasuk pada ETT, lalu terjadi pembentukan mikrokoloni, dan akhirnya mengekspresi polimer matriks (20). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* salah satu penyebab terbentuknya biofilm yang mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan dan menghasilkan berbagai faktor virulensi. Bakteri ini telah menjadi penyebab penting infeksi nosokomial dan dikategorikan sebagai salah satu bakteri oportunistik

yang terkait dengan infeksi termasuk pneumonia terkait ventilator (VAP) (8).

Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, bahwa pada penelitian ini metode absorbansi CV dilakukan dari bakteri yang ditanam pada media NA, sedangkan pada perbandingan penelitian sebelumnya, terdapat faktor yang berbeda yaitu pada pertumbuhan bakteri menggunakan media *Lysogeny Broth* (LB). Selain itu, pada potongan ETT peneliti sebelumnya menggunakan lapisan mukosa dari hewan sapi dikenal dengan metode *Synthetic Ventilated Airway Mucus* (SVAM) (11). Kemudian pada gelombang spektrofotometer yang dilakukan berbeda dengan penelitian sebelumnya, pada penelitian ini menggunakan 585 nm, sedangkan pada penelitian sebelumnya menggunakan 550 nm (12).

Selain itu, perbedaan juga terdapat pada hasil penelitian. Penelitian klinis memiliki tingkat generalisasi yang lebih tinggi terhadap populasi pasien, sedangkan penelitian laboratorium memiliki keterbatasan dalam hal penerapan langsung pada kondisi nyata. Pada interaksi biologis juga dapat muncul perbedaan, di mana pada penelitian sebelumnya terjadi interaksi antara mikroorganisme dalam tubuh, sedangkan pada penelitian ini interaksi tersebut tidak terjadi, sehingga hasil yang diperoleh lebih terlihat dengan karakteristik bakteri itu sendiri (19). Meskipun terdapat perbedaan hasil absorbansi CV pada kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif, pada pengamatan *Scanning Electron Microscope* (SEM) terdapat penempelan/struktur biofilm bakteri. Dijelaskan penelitian sebelumnya bahwa, adanya pembentukan biofilm pada permukaan ETT pada saat dilakukan SEM. Pada penelitian sebelumnya potongan ETT diinkubasi selama 5 hari (13). Peneliti juga melakukan fiksasi dengan menggunakan 2 % paraformaldehida dalam PBS (11). Selain itu peneliti sebelumnya memasang aluminium pada permukaan ETT dengan lapisan tipis Au (~15–20 nm) pada permukaan ETT (14). Pada mikroskop SEM dapat terlihat biofilm yang menyebar pada permukaan ETT sejak 2–7 hari setelah inisiasi ventilasi paru paru, dan pada 7–10 hari terdapat lebih banyak sekitar 87,5% biofilm pada permukaan ETT (16).

KESIMPULAN

1. Tidak terdapat perbedaan signifikan bakteri viabel pada permukaan ETT antara bahan PVC dan silikon.
2. Tidak ada perbedaan secara signifikan pada absorbansi CV pada ETT PVC dan silikon. Namun, berbeda terhadap kelompok kontrol negatif.

SARAN

1. Untuk sampel ETT yang digunakan dapat berupa ETT yang berlapis logam atau lapis ekstrak dari tumbuhan

2. Untuk melihat visualisasi penempelan bakteri dapat menggunakan mikroskop confocal (CLSM).
3. inkubasi pada pembentukan penempelan bakteri ETT selama 48 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Ikatan orang tua mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah mendanai penelitian dan kepada *peer reviewer* serta memberikan masukan yang konstruktif dalam penyusunan artikel ini. Dan terima kasih atas pembimbing kami, juga atas bantuan teknis Mbak arniyati, S.Si, mbak nofie Irmalia Nurita, S.Si dan Mas Mochamad mustakim, S.Si.

DAFTAR RUJUKAN

1. Warganegara, efrida.(2017). Pneumonia Nosokomial (Hospital-acquired, Ventilator-associated, dan Health Care-associated Penumonia). JK Unila: Vol.1 No. 3
2. Kohbodi GNA, Rajasurya V, Noor A. Ventilator-Associated Pneumonia. [Updated 2023 Sep 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. Available from:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507711/>
3. Li, Y., Roberts, J. A., Walker, M. M., Aslan, A. T., Harris, P. N. A., & Sime, F. B. (2024). The global epidemiology of ventilator-associated pneumonia caused by multi-drugresistant *Pseudomonas aeruginosa*: A systematic review and meta-analysis. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 139, 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.11.023>
4. Barnes, M., Feit, C., Grant, T. A., & Brisbois, E. J. (2019). Antimicrobial polymer modifications to reduce microbial bioburden on endotracheal tubes and ventilator associated pneumonia. *Acta biomaterialia*, 91, 220–234. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.042>
5. Yang, Y., Xiong, X., Wang, X., Dong, Q., & Pan, L. (2024). Prevention of ventilator-associated pneumonia by metal-coated endotracheal tubes: a meta-analysis. *Critical care (London, England)*, 28(1), 309. <https://doi.org/10.1186/s13054-024-05095-8>
6. Thi, M. T. T., Wibowo, D., & Rehm, B. H. A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8671. <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
7. Triandafillu, K., Balazs, D. J., Aronsson, B. O., Descouts, P., Tu Quoc, P., van Delden, C., Mathieu, H. J., & Harms, H. (2003). Adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* strains to untreated and oxygen-plasma treated poly(vinyl chloride) (PVC) from endotracheal intubation devices. *Biomaterials*, 24(8), 1507–1518. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(02\)00515-x](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00515-x)
8. Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm: A Review. *Pathogens(Basel,Switzerland)*, 11(3),300.<https://doi.org/10.3390/pathogens11030300>
9. Fitriani ditya., suhartati Rochmanah., Novitriani Korry.(2023). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen Di Perairan Pantai Pangandaran. Vol 2 (2023): [Prosiding Rapat Kerja Nasional Asosiasi Institusi Perguruan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia](https://prosiding.rapatkerja.nasional.asosiasi.institusi.perguruan.tinggi.teknologi.laboratorium.medik.indonesia)<https://prosiding.aiptlmiasmlt.id/index.php/prosiding/issue/view/5>
10. Deshmukh-Reeves, E., Shaw, M., Bilsby, C., & Gourlay, C. W. (2025). Biofilm Formation on Endotracheal and Tracheostomy Tubing: A Systematic Review and Meta-Analysis of Culture Data and Sampling Method. *MicrobiologyOpen*, 14(4),e70032. <https://doi.org/10.1002/mbo3.70032>
11. Walsh, D., Parmenter, C., Bakker, S. E., Lithgow, T., Traven, A., & Harrison, F. (2024). A new model of endotracheal tube biofilm identifies combinations of matrix-degrading enzymes and antimicrobials able to eradicate biofilms of pathogens that cause ventilator-associated pneumonia. *Microbiology (Reading, England)*, 170(8), 001480. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001480>
12. O'Toole G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (47), 2437. <https://doi.org/10.3791/2437>
13. Heidari, A. E., Moghaddam, S., Truong, K. K., Chou, L., Genberg, C., Brenner, M., & Chen, Z. (2015). Visualizing biofilm formation in endotracheal tubes using endoscopic three-dimensional optical coherence tomography. *Journal of biomedical optics*, 20(12), 126010. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.12.126010>
14. Einarsson, G. G., Das, S., Silversides, J. A., Fundano, N., Lonsdale, E., McMullan, R., McAuley, D. F., Irwin, N. J., McCoy, C. P., Wylie, M. P., & Sherrard, L. J. (2026).

- Biofilm communities above and below the cuff of endotracheal tubes are spatially homogenous. *Respiratory research*, 27(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s12931-025-03485-2>
15. Elbehiry, A., Marzouk, E., Edrees, H. M., Ibrahim, M., Alzahrani, S., Anagreyah, S., Abualola, H., Alghamdi, A., Alzahrani, A., Jaber, M., & Abu-Okail, A. (2026). Understanding *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Quorum Sensing, c-di-GMP Signaling, and Emerging Antibiofilm Approaches. *Microorganisms*, 14(1), 109. <https://doi.org/10.3390/microorganisms14010109>
 16. Diaconu, O., Siriopol, I., Poloşanu, L. I., & Grigoraş, I. (2018). Endotracheal Tube Biofilm and its Impact on the Pathogenesis of Ventilator-Associated Pneumonia. *Journal of critical care medicine (Universitatea de Medicina si Farmacie din Targu-Mures)*, 4(2), 50–55. <https://doi.org/10.2478/jccm-2018-0011>
 17. Kour, S., Dutta, U., Mahajan, T., Sheikh, Z. N., Al-Khayri, J. M., Al-Dossary, O., Alsubaie, B., & Aldaej, M. I. (2026). Biochromatic potential of *Pseudomonas aeruginosa* from grapes: molecular profiling, antimicrobial action and eco-friendly dye applications. *Scientific reports*, 16(1), 10859. <https://doi.org/10.1038/s41598-026-43143-1>
 18. Alves, D., Grainha, T., Pereira, M. O., & Lopes, S. P. (2023). Antimicrobial materials for endotracheal tubes: A review on the last two decades of technological progress. *Acta biomaterialia*, 158, 32–55. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.01.001>
 19. Thorarinsdottir, H. R., Kander, T., Holmberg, A., Petronis, S., & Klarin, B. (2020). Biofilm formation on three different endotracheal tubes: a prospective clinical trial. *Critical care (London, England)*, 24(1), 382. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03092-1>
 20. Li X, Gu N, Huang TY, Zhong F and Peng G (2023) *Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. *Front. Microbiol.* 13:1114199.doi:10.3389/fmicb.2022.111419
 21. Wilson C, Lukowicz R, Merchant S, Valquier-Flynn H, Caballero J, Sandoval J, Okuom M, Huber C, Brooks TD, Wilson E, Clement B, Wentworth CD, Holmes AE. Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Res Rev J Eng Technol.* 2017 Dec;6(4):<http://www.rroj.com/open-access/quantitative-and-qualitative-assessment-methods-for-biofilm-growth-a-minireview-.pdf>. Epub 2017 Oct 24. PMID: 30214915; PMCID: PMC6133255.

