

PENGARUH BAHAN *Endotracheal Tube* (ETT) TERHADAP PEMBENTUKAN BIOFILM OLEH BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Alvito Kurnia Pramarendra, Citra Destya Rahma Putri¹, Rio Risandiansyah^{1,2#}

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

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

ABSTRAK

Pendahuluan: *Ventilator-associated pneumonia* (VAP) adalah salah satu risiko intubasi dengan ETT yang berkepanjangan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. PVC dan silikon adalah bahan yang paling umum pada ETT. Bahan ETT dapat mempengaruhi adhesi dari bakteri pada permukaan ETT. Adhesi bakteri dapat menginisiasi pembentukan biofilm pada permukaan ETT. Namun, penelitian terkait pembentukan biofilm karena bahan ETT (PVC dan silikon) belum banyak diteliti. Penelitian ini membandingkan perbedaan pembentukan biofilm oleh *Staphylococcus aureus* pada bahan ETT yang berbeda.

Metode: Penelitian eksperimental *in vitro* pembentukan biofilm oleh bakteri *Staphylococcus aureus* pada permukaan ETT berbahan PVC dan silikon dengan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Bakteri viable yang tumbuh pada permukaan ETT diukur dengan *Total Plate Count* (TPC), sedangkan bakteri keseluruhan dan *Extracellular Matrix* (ECM) akan dikuantifikasi menggunakan metode pewarnaan *Crystal Violet* (CV). Metode TPC diukur dengan menghitung jumlah koloni pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan nilai satuan Log CFU/ml. Metode CV dilakukan dengan mengukur absorbansi zat warna dari biofilm pada panjang gelombang 585 nm. Analisa data dilakukan dengan uji *Mann Whitney* ($p>0,05$).

Hasil & Pembahasan: Hasil perhitungan TPC tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara PVC dan silikon dengan satuan Log CFU/ml yang setara dengan 10^4 - 10^5 CFU/mL. Uji CV menunjukkan ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan PVC, namun tidak ada perbedaan pada bahan silikon. Hasil uji CV menunjukkan tidak ada perbedaan antara bahan PVC dan silikon.

Simpulan: Pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* antara ETT berbahan PVC dan silikon tidak terdapat perbedaan.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*; Biofilm; ETT; Infeksi Nasokomial

#Korespondensi:

Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

THE EFFECT OF ENDOTRACHEAL TUBE (ETT) MATERIALS ON BIOFILM FORMATION BY *Staphylococcus aureus* BACTERIA

Alvito Kurnia Pramarendra, Citra Destya Rahma Putri¹, Rio Risandiansyah^{1,2#}

¹Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

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

ABSTRACT

Background: *Ventilator-associated pneumonia* (VAP) is one of the risks of prolonged intubation with an ETT caused by *Staphylococcus aureus* bacteria. PVC and silicone are the most common materials used in ETTs. ETT materials can affect bacterial adhesion to the ETT surface. Bacterial adhesion can initiate biofilm formation on the ETT surface. However, research related to biofilm formation due to ETT materials (PVC and silicone) has not been widely studied. This study compares the differences in biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on different ETT materials.

Methods: *In vitro* experimental study of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* bacteria on the surface of PVC and silicone ETT with incubation at 37° C for 24 hours. Viable bacteria growing on the surface of ETT were measured by *Total Plate Count* (TPC), while the overall bacteria and *Extracellular Matrix* (ECM) were quantified using the *Crystal Violet* (CV) staining method. The TPC method was measured by counting the number of colonies on *Nutrient Agar* (NA) media with a value of Log CFU/ml units. The CV method was carried out by measuring the absorbance of the dye from the biofilm at a wavelength of 585 nm. Data analysis was carried out using the *Mann Whitney* test ($p>0.05$).

Results & Discussion: The TPC calculation results showed no significant difference between PVC and silicone with Log CFU/ml units equivalent to 10^4 - 10^5 CFU/mL. The CV test showed a difference between the control group and the PVC treatment group, but no difference was found in the silicone material. The CV test results showed no difference between PVC and silicone materials.

Conclusion: There was no difference in the formation of *Staphylococcus aureus* biofilm between PVC and silicone ETTs.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; Biofilms; ETT; Nosocomial Infection

#Corresponding author:

Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

PENDAHULUAN

Ventilator-associated pneumonia (VAP) adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan pneumonia (infeksi paru-paru) yang berkembang pada pasien yang telah menggunakan ventilasi mekanis selama lebih dari 48 jam. Menurut penelitian Saragih *et. al.* (2014), prevalensi penyebab VAP di RS Cipto Mangunkusumo pada pasien rawat *Intensive Care Units* (ICU) selama tahun 2003-2012 dengan jenis patogen hasil kultur darah adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (5,7%) (1).

Intubasi adalah faktor risiko utama, terkait dengan lebih dari 95% pneumonia di ICU (2). *Endotracheal Tube* (ETT) merupakan penyebab utama perkembangan VAP karena proses kolonisasi mikroba pada permukaan ETT yang dini dan pembentukan biofilm oleh berbagai patogen (3). *Endotracheal Tube* (ETT) yang paling umum digunakan adalah bahan *Polyvinyl Chloride* (PVC), karena sifatnya yang murah dan fleksibel. Pada permukaan silikon, terjadi pengurangan adhesi bakteri dan pembentukan biofilm yang signifikan dibandingkan dengan permukaan PVC (4).

Endotracheal Tube (ETT) PVC memiliki kerentanan terhadap adhesi bakteri *in vitro* (5). Permukaan hidrofobik ETT-PVC memberikan kondisi ideal untuk adhesi dan proliferasi mikroba, yang akhirnya menghasilkan kolonisasi mikroba persisten di seluruh permukaan ETT eksternal (3). Biofilm merupakan sekumpulan dari mikroorganisme yang memproduksi *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) yang disekresikan oleh bakteri selama proses pertumbuhan pada perlekatan substrat biotik maupun abiotik (6).

Berdasarkan bahan ETT yang digunakan, menunjukkan bahwa perbedaan bahan ETT dapat mempengaruhi angka kemunculan biofilm. Penelitian sebelumnya dilakukan uji bahan ETT berbahan PVC yang dilapisi terhadap pembentukan biofilm. Namun, belum membandingkan antara ETT berbahan PVC dan silikon. Penelitian ini akan melakukan perbandingan kuantifikasi biofilm *Staphylococcus aureus* pada berbagai bahan ETT dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dan *Crystal violet* (CV).

METODE PELAKSANAAN

Desain Penelitian, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian eksperimental yang menguji kuantifikasi biofilm dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk pada permukaan ETT silikon dan PVC, 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.

Persiapan Pembentukan Sel Biofilm pada ETT

Endotracheal Tube (ETT) berbahan PVC dan silikon dalam keadaan steril dipotong sebesar 1 cm² di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Potongan

ETT ditanam pada media *Broth Heart Brain Infusion* (BHIB) + 5% sukrosa sebanyak 4 ml dan ditambahkan larutan bakteri *Staphylococcus aureus* 0,5 ml yang sudah distandarisasi dengan standar McFarland 0,5 (10⁸ CFU/mL) (16). Inkubasi dengan suhu 35 °C selama 18-24 jam (7).

Kuantifikasi Bakteri Viabel pada *Endotracheal Tube* (ETT) dari Bahan PVC dan Silikon

Potongan ETT yang sudah diinkubasi, diangkat dan dipindahkan ke dalam *microtube* 2 ml yang berisi 1 ml *Normal Saline* (NS) steril. Kemudian, dilakukan vortex selama 1 menit dengan kecepatan penuh dan sonikasi pada 10 Hz selama 50-60 detik. Kemudian, di vortex kembali selama 1 menit. Masing-masing *microtube* dilakukan pengenceran 1/1.000 dan 1/10.000 (8). Hasil dari pengenceran dicelupkan dengan kapas lidi steril dan ditanam pada media *Nutrient Agar* (NA). Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah sel dalam satuan CFU/ml dihitung dengan rumus perhitungan; CFU/ml (g) = jumlah koloni / jumlah sampel yang diinokulasikan. Jumlah ulangan dilakukan 3x dalam 3 hari berbeda (n=9).

Kuantifikasi Indirek Biofilm pada Potongan *Endotracheal Tube* (ETT)

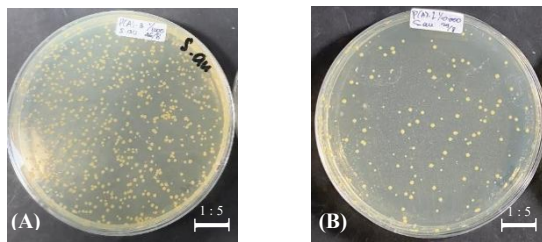
Potongan ETT yang sudah diinkuasi, dibilas dengan PBS 1 kali sebanyak 2 ml dengan pH 7,2 untuk menghilangkan *planktonic*. Kemudian diberikan metanol 96% sebanyak 2 ml selama 10 menit lalu metanol dibuang, dan dibilas kembali dengan PBS 1 kali sebanyak 2 ml. Setelah dibuang, tambahkan CV 0,1% sebanyak 2 ml dan diamkan selama 10 menit dan dibilas dengan PBS 2 kali. Masukkan 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. Semakin tinggi hasil absorbansinya maka semakin tinggi biofilm yang terbentuk (9).

Analisa Statistik

Hasil data bakteri viabel (TPC) dan pewarnaan CV biofilm diuji normalitas dan homogenitas menggunakan SPSS versi 23.0. Hasil uji data untuk melihat perbedaan antara bahan PVC dan Silikon berdasarkan bakteri viabel menunjukkan data tidak berdistribusi normal maka diuji menggunakan *Mann Whitney*. Sedangkan untuk perbedaan antara bahan PVC dan silikon berdasarkan nilai *absorbansi* CV menunjukkan data berdistribusi normal maka diuji menggunakan *Independent T-Test*. Untuk melihat perbedaan nilai *absorbansi* CV antara kelompok intervensi dan kontrol negatif menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen maka diuji dengan *Independent T-Test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Kuantifikasi Bakteri Viabel pada *Endotracheal Tube* (ETT) dari Bahan PVC dan Silikon



Gambar 1 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media Nutrient Agar (NA).

Keterangan: (A) pengenceran 1/1.000; (B) pengenceran 1/10.000.

Morfologi *Staphylococcus aureus* pada media Nutrient Agar (NA), **Gambar 1** pertumbuhan bakteri berbentuk bulat dengan permukaan mengkilat, dan pigmen kuning pada koloni yang tipikal bakteri *Staphylococcus aureus* (10).

Perhitungan bakteri viabel menggunakan satuan Log CFU/mL yang setara dengan 10^4 - 10^5 CFU/mL pada **Gambar 2A**, bahwa rata-rata bakteri viabel yang terbentuk pada bahan PVC 4,84, sedangkan pada bahan silikon 4,66. Hal ini menunjukkan bahwa pada bahan ETT-PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p>0,05$).

Nilai Serapan (Absorbansi) Biofilm pada Crystal Violet

Berdasarkan **Gambar 2B**, hasil rata-rata nilai *absorbansi* menunjukkan pembentukan biofilm pada bahan PVC 0,13 dengan nilai kontrol negatif 0,09; pada bahan silikon 0,11 dengan nilai kontrol negatif 0,08. Hal ini menunjukkan bahwa pada permukaan bahan ETT-PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan intervensi pada bahan PVC ($p<0,05$), sedangkan pada bahan silikon tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan intervensi ($p>0,05$).

PEMBAHASAN

Bakteri Viabel yang Diukur dengan Total Plate Count (TPC)

Biofilm adalah populasi bakteri yang terorganisir dan mengacu pada *Extracellular Matrix* (ECM) seperti membran yang dibentuk oleh adhesi koloni bakteri dan *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) seperti polisakarida, asam nukleat, dan protein yang disekresikan oleh bakteri selama proses pertumbuhan (6). Terbentuknya biofilm pada biomaterial pada akhirnya dapat menyebabkan peradangan kronis dan berfungsi sebagai reservoir bakteri (11). Peran ETT dalam patogenesis VAP menjadi sangat menonjol karena penelitian ekstensif yang ditujukan untuk infeksi terkait alat medis dan biofilm (3).

Berdasarkan hasil penelitian ini, bahwa pembentukan biofilm bakteri pada masing-masing ETT dan tidak terdapat perbedaan signifikan antara PVC dan silikon. Hasil TPC pada ETT berbahan PVC dan silikon 4,84 dan 4,66 Log CFU/ml. Hal ini

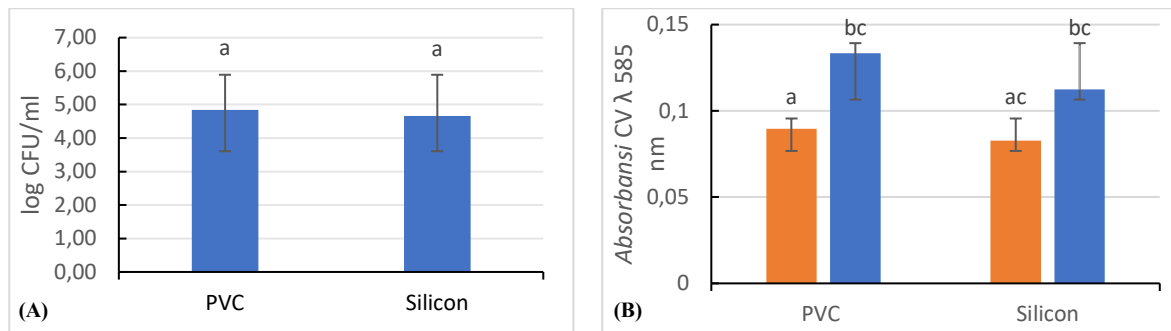
menunjukkan perhitungan bakteri viabel pada ETT berbahan PVC dan silikon tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Adhesi bakteri pada permukaan ETT-PVC memiliki kerentan secara *in vitro* (5), sedangkan pada silikon, terjadi porositas yang membuat bahan silikon rentan terhadap adhesi mikroba (12). Permukaan hidrofobik PVC-ETT memberikan kondisi ideal untuk perlekatan dan proliferasi mikroba, yang akhirnya menghasilkan kolonisasi mikroba persisten di seluruh permukaan ETT eksternal dan internal (3). *Staphylococcus aureus* dapat secara signifikan membentuk biofilm pada tabung silikon (11). Adhesi bakteri memiliki keterkaitan dengan sifat biomaterial dan zat-zat tertentu yang terelusi dari kateter dapat mempengaruhi perkembangan bakteri (18).

Hal ini bertentangan dengan penelitiannya sebelumnya, Thorarinsdottir HR *et. al.* (2020) yang dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan ETT yang telah digunakan pasien. Thorarinsdottir HR *et. al.* (2020) melaporkan bahwa pada permukaan PVC lapis silikon, terjadi pengurangan adhesi bakteri dan pembentukan biofilm yang signifikan dibandingkan dengan permukaan PVC. Penelitian yang dilakukan selama 6 periode, masing-masing periode berlangsung selama 3 bulan. Di mana setiap 2 periode menggunakan ETT dengan bahan yang berbeda, di antaranya yaitu, bahan PVC, PVC yang dilapisi silikon, dan ETT yang dilapisi logam mulia tipis. Sampel pasien diambil dari pasien yang berusia > 18 tahun dan dirawat di *Intensive Care Unit* (ICU) yang memerlukan intubasi setidaknya 24 jam (4).

Berdasarkan hasil kultur pada penelitian Thorarinsdottir HR *et. al.* (2020), didapatkan bakteri patogen Gram positif, salah satunya *Staphylococcus aureus*. Endotracheal Tube (ETT) yang terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* pada bahan PVC ($n=14$), yaitu 2 (11%); bahan PVC yang dilapisi silikon ($n=13$), yaitu 2 (13%). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dari bahan PVC dan silikon pada hasil kultur (4). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan pada hasil penelitian ini, bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara bahan PVC dan silikon dari hasil TPC.

Normal flora di nasofaring dapat memicu pembentukan biofilm dan lebih lanjut bergabungnya bakteri patogen ke dalam biofilm yang sudah terbentuk (19). Tahap paling awal dari pembentukan biofilm multi-spesies adalah kebocoran sekresi nasofaring yang kemudian terdapat bakteri normal flora yang sebagian besar adalah *Streptococcus sp.* di sekitar ETT, sehingga dapat melakukan adhesi dan kolonisasi awal. Tahap kedua, yaitu ko-agregasi *Streptococcus sp.* dengan normal flora lain subgingiva, dan lebih lanjut dapat bergabungnya spesies oral oportunistik. Hal ini memungkinkan bergabung dan berinteraksinya bakteri patogen nosokomial, seperti *Staphylococcus aureus* dengan



Gambar 2 (A) Perbandingan jumlah bakteri viabel antara bahan PVC dan silikon. (B) Nilai Absorbansi Crystal Violet (CV) antara bahan PVC dan silikon.

Keterangan: Perbandingan bahan PVC dan silikon pada jumlah bakteri viabel dan nilai absorbansi CV tidak terdapat perbedaan signifikan ($p>0,05$) diuji dengan *Mann Whitney*. Pada perbandingan kelompok kontrol (jingga) dan perlakuan (biru) bahan PVC, ditemukan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$); pada bahan silikon tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol (jingga) dan perlakuan (biru) ($p>0,05$) diuji dengan *Independent T-Test*

spesies bakteri oral di dalam biofilm yang sudah terbentuk (19).

Biofilm heterogen dapat berevolusi sehingga persaingan antar spesies berkurang dan ko-metabolisme meningkat sehingga pembagian sumber daya/nutrisi yang lebih efisien antar spesies (20). Heterogenitas pada biofilm menghasilkan gardien yang curam dan menjadi ciri biofilm dengan tebal yang berlapis-lapis (21). Hal ini memungkinkan pembentukan biofilm pada penelitian *in vivo* terbentuk lebih kompleks.

Absorbansi Crystal Violet

Berdasarkan hasil penelitian nilai absorbansi *Crystal Violet*, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ETT-PVC dengan silikon ($p>0,05$). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan intervensi pada bahan PVC ($p<0,05$), sedangkan pada bahan silikon tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan intervensi ($p>0,05$).

Pada pengukuran dengan menggunakan metode *Crystal Violet*, hasil yang didapatkan sejalan dengan hasil perhitungan bakteri viabel. Di mana terdapat pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm pada permukaan ETT. Namun, *Crystal Violet* yang digunakan sebagai pewarnaan biofilm dapat menempel pada bahan ETT (17).

Adhesi bakteri pada permukaan dan pembentukan biofilm bergantung pada sejumlah sifat fisikokimia dinding bakteri dan substrat permukaan, termasuk kekasaran permukaan, dan hidrofobisitas (13). Sifat hidrofobisitas yang dimiliki pada material menjadi perhatian penting dalam proses adhesi bakteri (14). Interaksi hidrofobik didasari kontak yang rapat antara molekul dengan permukaan bakteri (15). Namun, pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa topografi ETT-PVC dan silikon, yang belum digunakan, memiliki permukaan yang sama secara subjektif yang dianalisis dengan *Scanning electron microscopy* (SEM) (4).

Permukaan hidrofobik pada bahan ETT-PVC dan silikon menjadi faktor penentu adhesi bakteri, sehingga mempengaruhi pembentukan

biofilm. Walaupun sifat hidrofobik dari bahan ETT PVC dan silikon masih banyak pertentangan dalam pengaruh proses adhesi dan pembentukan biofilm pada permukaan abiotik. Selain itu, perlunya melihat faktor lain yang dapat menjadi faktor adhesinya bakteri pada permukaan biomaterial. Pada penelitian ini, metode yang digunakan masih belum dapat mengamati struktur tiga dimensi biofilm pada permukaan ETT, sehingga menjadi keterbatasan dalam menentukan dan menilai biofilm yang terbentuk pada permukaan ETT.

KESIMPULAN

1. Perbandingan jumlah koloni tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* antara bahan PVC dan silikon.
2. Perbandingan nilai absorbansi CV pada ETT bahan PVC dan Silikon tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Perbandingan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pada bahan PVC terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan pada bahan silikon tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan oleh peneliti, penulis menyarankan, menggunakan metode yang dapat menilai dan mengevaluasi biofilm secara langsung, seperti *Scanning electron microscopy* (SEM).

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang untuk dukungan terhadap penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas kedokteran, Universitas Islam Malang dan terima kasih pula atas bantuan teknis kepada Arniyati, S. Si. dan Nofie Irmalia, S. Si., serta Moch. Mustakim, S.Si.

DAFTAR RUJUKAN

1. Saragih, Riahdho J., *et al.* 2014. *Prediktor Mortalitas Pasien dengan Ventilator-Associated Pneumonia* di RS Cipto Mangunkusumo. Vol. 2, No. 2
2. Howroyd, F., Chacko, C., MacDuff, A. *et al.* 2024. Pneumonia terkait ventilator: heterogenitas patobiologis dan tantangan diagnostik. *Nat Commun* **15**, 6447. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50805-z>
3. Alves, Diana, Tânia Grainha, Maria Olívia Pereira, *et al.* (2023). *Antimicrobial materials for endotracheal tubes: A review on the last two decades of technological progress*. *Acta Biomaterialia*. Vol.158. Pages 32-55. ISSN 1742-7061
4. Thorarinsdottir HR, Kander T, Holmberg A, *et al.* 2020. Biofilm formation on three different endotracheal tubes: a prospective clinical trial. *Crit Care*. 29;24(1):382. doi: 10.1186/s13054-020-03092-1. PMID: 32600373; PMCID: PMC7322705.
5. Jones DS, McGovern JG, *et al.* 1997. Peran kondisi fisiologis di orofaring pada adhesi isolat bakteri pernapasan ke tabung endotrakeal (polivinil klorida) *Biomaterials*;18:503–510. doi: 10.1016/s0142-9612(96)00170-6.
6. Peng, Q., Tang, X., Dong, W., *et al.* (2023). A Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. *Antibiotics*, 12(1), 12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010012>
7. Shen, L., Wang, F., Shi, J. *et al.* (2019). Analisis mikrobiologi aspirasi endotrakeal dan kultur tabung endotrakeal pada pasien yang menggunakan ventilator mekanik. *BMC Pulm Med* **19**, 162. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0926-3>
8. Ramadhani, Indrie dan Wahyuni. (2020). *Dasar-dasar Praktikum Mikrobiologi*. Banyumas: CV. Pena Persada
9. Wilson C, Lukowicz R, Merchant S, *et al.* (2017). Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Res Rev J Eng Technol*. 6(4). PMID: 30214915; PMCID: PMC6133255.
10. Krihariyani, Dwi, Evy Diah Woelansari, Entuy Kurniawan. 2016. Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, Ab, Dan Darah Domba Sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, Vol.3/No.2
11. Kim DJ, Park JH, Chang M. 2018. Species-specific characteristics of the biofilm generated in silicone tube: an in vitro study. *BMC Ophthalmol*;18(1):85. doi: 10.1186/s12886-018-0750-1. PMID: 29614999; PMCID: PMC5883301.
12. Kumar A, Seenivasan MK, Inbarajan A. 2021. A Literature Review on Biofilm Formation on Silicone and Polymethyl Methacrylate Used for Maxillofacial Prostheses. *Cureus*;13(11):e20029. doi: 10.7759/cureus.20029. PMID: 34987914; PMCID: PMC8717108.
13. Ojano-Dirain CP, Silva RC, Antonelli PJ. 2013. Biofilm formation on coated silicone tympanostomy tubes. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*;77(2):223-7. doi: 10.1016/j.ijporl.2012.10.027. PMID: 23200869.
14. Akalin-Evren, B., Kulak-Ozkan, Y., *et al.* 2012, *Candida albicans Adhesion on Reinforce Polymethylmethacrylate Denture Resin: Effect of Fiber Architecture and Exposure of Saliva*, *Gerodontology*; doi: 10.1111/ger.12024, 1-8
15. Astuti, N. K. A. (2022). The Effect of Reinforced Polyethylene Fiber on Flowable. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi (IJKG)*; Volume 18, issue 1
16. Uzma, S. F., Anam, K., & Utami, W. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 3(2), 100 - 111. <https://doi.org/10.14710/genres.v3i2.20064>
17. Ramadhan, M. R. D., Yahya, A., & Martino, Y. A. (2024). Pembentukan Biofilm *S. aureus* pada Kateter Lateks Lebih Tinggi Dibandingkan dengan Kateter PVC dan Silikon. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 12(1).
18. Lopez-Lopez, G., Pascual, A., & Perea, E. J. (1991). Effect of plastic catheter material on bacterial adherence and viability. *Journal of medical microbiology*, 34(6), 349–353. <https://doi.org/10.1099/00222615-34-6-349>
19. Vandecandelaere, I., & Coenye, T. (2015). Microbial composition and antibiotic resistance of biofilms recovered from endotracheal tubes of mechanically ventilated patients. *Advances in experimental medicine and biology*, 830, 137–155. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11038-7_9
20. Burmølle, M., Ren, D., Bjarnsholt, T. *et al.* (2014). Interactions in multispecies biofilms: do they actually matter?. *Trends in microbiology*, 22(2), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.12.004>
21. Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., *et al.* (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature reviews. Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>