



INTISARI SAINS MEDIS

Published by Intisari Sains Medis

Prevalensi keberadaan gen *pslA* penyandi biofilm pada isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah periode Juli 2022 - Juni 2023



CrossMark

Viriya Jonathan¹, Agus Eka Darwinata², Komang Januartha Putra Pinatih²,
Ni Made Adi Tarini^{2*}

ABSTRACT

Backgrounds: *Pseudomonas aeruginosa* can form a biofilm in less than 24 hours that is resistant to antibiotics. The *pslA* gene is exopolysaccharides involved in biofilm formation. Biofilm formed by *pslA* gene can increase opportunity for acquired resistance mechanisms to occur due to gene transfer between bacteria in the biofilm. This study purpose is to determine the prevalence of *pslA* gene in MDR and non-MDR *P. aeruginosa* clinical isolates at Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah for period July 2022 - June 2023.

Methods: This research is qualitative descriptive study to determine the presence of *pslA* gene which

detected using PCR method. Samples were taken using cross-sectional technique, available clinical isolates for period July 2022 - June 2023 at RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, with identification test VITEK-2 Compact and probability level $\geq 90\%$. Obtained data were analyzed descriptively by grouping based on research variables in the form of frequency distribution table.

Results: *pslA* gene is detected in 37 (88,09%) *P. aeruginosa* isolates, with 19 (90,47%) among them in MDR isolates, and 18 (85,71%) in non-MDR isolates.

Conclusion: *pslA* gene is found in MDR and Non-MDR *P. aeruginosa* isolates.

Keywords: clinical isolates, MDR, *Pseudomonas aeruginosa*, *pslA* gene.

Cite This Article: Jonathan, V., Darwinata, A.E., Pinatih, K.J.P., Tarini, N.M.A. 2024. Prevalensi keberadaan gen *pslA* penyandi biofilm pada isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah periode Juli 2022 - Juni 2023. *Intisari Sains Medis* 15(1): 164-168. DOI: [10.15562/ism.v15i1.1949](https://doi.org/10.15562/ism.v15i1.1949)

ABSTRAK

Latar Belakang: *Pseudomonas aeruginosa* membentuk biofilm kurang dari 24 jam yang resistan antibiotik. Gen *pslA* merupakan eksopolisakarida yang terlibat dalam pembentukan biofilm. Dengan adanya biofilm yang terbentuk oleh gen *pslA* dapat meningkatkan kesempatan terjadinya *acquired resistance mechanisms* akibat transfer gen antarbakteri dalam biofilm. Penelitian ini bertujuan mencari prevalensi gen *pslA* pada isolat klinis *P. aeruginosa* MDR dan non-MDR di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Periode Juli 2022 - Juni 2023.

Metode: Penelitian adalah deskriptif kualitatif untuk mengetahui keberadaan gen *pslA* yang terdeteksi menggunakan metode PCR. Sampel penelitian diambil dengan teknik *cross-sectional*, yaitu isolat klinis

yang tersedia selama periode Juli 2022 - Juni 2023 di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, dengan tes identifikasi VITEK-2 *Compact* dan tingkat probabilitas identifikasi bakteri $\geq 90\%$. Data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif dengan dikelompokkan berdasarkan variabel penelitian dalam bentuk tabel distribusi frekuensi.

Hasil: Terdeteksi gen *pslA* pada 37 (88,09%) isolat *P. aeruginosa*, dengan 19 (90,47%) diantaranya isolat MDR dan 18 (85,71%) pada isolat non-MDR.

Kesimpulan: Bakteri *P. aeruginosa* terdeteksi pada isolat klinis dari pasien di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah. Gen *pslA* ditemukan pada isolat *P. aeruginosa* MDR dan non-MDR.

Kata kunci: gen *pslA*, isolat klinis, MDR, *Pseudomonas aeruginosa*.

Sitasi Artikel ini: Jonathan, V., Darwinata, A.E., Pinatih, K.J.P., Tarini, N.M.A. 2024. Prevalensi keberadaan gen *pslA* penyandi biofilm pada isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah periode Juli 2022 - Juni 2023. *Intisari Sains Medis* 15(1): 164-168. DOI: [10.15562/ism.v15i1.1949](https://doi.org/10.15562/ism.v15i1.1949)

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Bali, Indonesia;

²Departemen Mikrobiologi Klinis, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Bali, Indonesia.

*Korespondensi:

Ni Made Adi Tarini;

Departemen Mikrobiologi Klinis, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana / RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, Denpasar, Bali, Indonesia; nmatarini@unud.ac.id

Diterima: 16-11-2023

Disetujui: 22-01-2024

Diterbitkan: 13-02-2024

PENDAHULUAN

Infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah salah satu jenis infeksi bakteri yang sering terjadi di rumah sakit, terutama di unit perawatan intensif (ICU), dan menjadi penyebab utama infeksi terkait pelayanan kesehatan (HAIs) atau infeksi nosokomial. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 27 Tahun 2017, HAIs adalah infeksi yang muncul selama pasien menjalani perawatan di rumah sakit selama 48 jam terakhir.¹ Infeksi terkait pelayanan kesehatan disebabkan oleh invasi bakteri yang masuk ke dalam jaringan tubuh, organ tubuh, ataupun cairan tubuh.² Kasus infeksi *P. aeruginosa* yang resisten terhadap berbagai obat (MDR) memerlukan perawatan yang intensif di rumah sakit karena berkemungkinan dapat menyebabkan timbulnya komplikasi lebih lanjut, yang pada akibatnya meningkatkan durasi perawatan di rumah sakit.³ Infeksi *P. aeruginosa* menjadi penyebab utama atas tingkat kesakitan dan kematian pada pasien dengan kelainan sistem kekebalan tubuh atau yang mengalami keadaan gangguan imun, seperti pasien neutropenia, luka bakar, dan fibrosis kistik (CF).⁴

Biofilm adalah salah satu dari faktor virulensi penting yang dimiliki oleh *Pseudomonas aeruginosa* yang memiliki peranan utama dalam menyebabkan patogenitas. Biofilm merupakan suatu komunitas dari mikroorganisme yang tersusun secara kompleks dan organisir, berasal dari pertumbuhan mikroba yang melekat pada suatu permukaan. Biofilm berfungsi sebagai pelindung yang memungkinkan bakteri untuk bertahan hidup dalam kondisi yang tidak menguntungkan, tanpa terkecuali pada permukaan alat medis.⁵ *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm dalam waktu 24 jam, yang dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik. Mekanisme pembentukan biofilm bervariasi tergantung dari jenis bakteri itu sendiri, contohnya pada bakteri *P. aeruginosa* yang mengandalkan keberadaan dari lokus sintesis polisakarida (*psl*) dan lokus pengkode polisakarida (*pel*).⁶

Infeksi oleh *P. aeruginosa* sulit disembuhkan dan dapat mengancam

jiwa karena biofilmnya memiliki kemampuan transfer gen yang resistan dengan antibiotik, sehingga biofilm yang awalnya sensitif dapat berubah menjadi resistan. Biofilm kemudian menjadi tempat berlindung sel bakteri untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya dari berbagai ancaman, terutama antibiotik.⁷ *Psl* merupakan salah satu komponen utama eksopolisakarida dalam biofilm matriks, yang berfungsi sebagai tempat perlindungan sel bakteri dari agen antimikroba dan respon imun. Pada tahun 2014, di Iran ditemukan gen *pslA* pada 87 isolat (83,7%) *P. aeruginosa*. Pada tahun 2018, menurut suatu penelitian di Korea ditemukan sebanyak 71 isolat (93,4%) *P. aeruginosa* yang menghasilkan biofilm mengandung gen *pslA*.^{8,9}

Berdasarkan data diatas, *psl* adalah eksopolisakarida utama yang diproduksi dalam matriks biofilm dan sintesis *psl* dimediasi oleh kluster gen *psl* (*pslA-pslO*) dengan *pslA* sebagai gen pertama dan terpenting yang diperlukan untuk sintesis *psl*.¹⁰ Dengan adanya biofilm yang terbentuk oleh gen *pslA* dapat meningkatkan kesempatan terjadinya *acquired resistance mechanisms* akibat transfer gen antar bakteri dalam biofilm. Data di Indonesia belum ada terkait keberadaan gen *pslA*. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi lebih lanjut terkait prevalensi keberadaan gen *pslA* penyandi biofilm pada isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif untuk mengetahui keberadaan gen *pslA* yang terdeteksi menggunakan metode PCR dengan rancangan penelitian *cross-sectional*, yaitu variabel penelitian diambil selama periode tertentu. Penelitian ini dilaksanakan dari Bulan November - Desember 2023 di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar. Populasi terjangkau pada penelitian ini merupakan semua isolat klinis *P. aeruginosa* yang tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Denpasar selama periode tahun 2022-2023. Dengan

kriteria inklusi, yaitu isolat klinis *P. aeruginosa* yang tersimpan selama periode Juli 2022 - Juni 2023, tes identifikasi dengan menggunakan VITEK-2 Compact dan menunjukkan tingkat probabilitas identifikasi bakteri $\geq 90\%$. Sementara kriteria eksklusi pada penelitian ini, yaitu isolat klinis *P. aeruginosa* yang tidak dapat ditumbuhkan kembali setelah dikultur. Sampel yang digunakan pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 2, yaitu pada isolat klinis *P. aeruginosa* yang MDR dan Non-MDR.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari inkubator, mesin *centrifuge*, *thermal cycler*, elektroforesis apparatus, dan Gel Doc. Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari isolat klinis *P. aeruginosa* MDR dan Non-MDR, Mueller Hinton Agar (MHA), ose, bubuk agarosa, DNA ladder 100 bp, *ethidium bromide*, master mix PCR, primer gen *pslA-F* dan *pslA-R*, tabung, pipet, dan tube *eppendorf*.

Subkultur Isolat dan Isolasi DNA

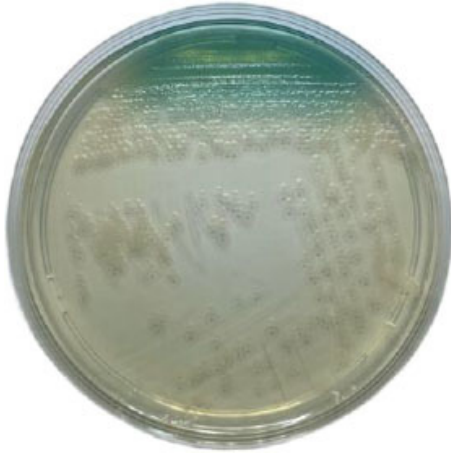
Isolat klinis *P. aeruginosa* yang digunakan di-re-kultur pada MHA dan diinkubasi selama 24 jam hingga tumbuh koloni. Koloni yang terbentuk kemudian dilarutkan dalam cairan TE pH 8, dan dilanjutkan ekstraksi DNA pada kromosom dengan metode *boiling* pada suhu 100°C selama 15 menit, lalu segera didinginkan di atas es selama 5 menit, dan di-*centrifuge* selama 60 detik, dengan kecepatan 13000 rpm. DNA kromosom yang terlarut dan tersisa di *supernatant* kemudian dipindahkan sebanyak 200 μ l ke tube *eppendorf* yang baru dan disimpan di kulkas bersuhu -20°C.

Deteksi Gen *pslA* dengan PCR

Kemudian dilanjutkan ke tahap PCR untuk mendeteksi genotipe gen *pslA* secara kualitatif. Campuran PCR yang digunakan mengandung master mix PCR sebanyak 5 μ l, masing-masing primer gen sebanyak 0,7 μ l, NFW sebanyak 2,8 μ l, DNA sampel yang sudah terekstraksi dengan metode *boiling* sebanyak 0,8 μ l. Primer yang digunakan untuk gen *pslA* adalah *pslA-F* (TCCCTACCTCAGCAGCAAGC) dan *pslA-R* (TGTTGTAGCCGTAGCGTTTCTG) dengan hasil amplifikasi fragmen sebesar

Tabel 1. Primer gen *psIA* yang digunakan selama amplifikasi PCR

<i>psIA</i>	Primer sequence (5'-3')	Ukuran pita (bp)	Suhu annealing (°C)	Referensi
F	TCCCTACCTCAGCAGCAAGC	656	55	Ghadaksaz et al. (2015)
R	TGTTGTAGCCGTAGCGTTTCTG			

**Gambar 1.** Koloni bakteri yang tumbuh setelah dilakukan re-kultur pada isolat klinis *P. aeruginosa*.

656 bp. Amplifikasi dilakukan dengan siklus sebagai berikut: sekali siklus selama 3 menit pada suhu 95°C untuk tahap pre-denaturasi, 35 kali siklus selama 1 menit pada suhu 95°C untuk tahap denaturasi, 35 kali siklus selama 1 menit pada suhu 55°C untuk tahap penguatan (*annealing*), 35 kali siklus selama 1 menit pada suhu 72°C untuk tahap pemanjangan (*extension*), dan sekali siklus selama 5 menit pada suhu 72°C sebagai ekstensi akhir. Fragmen DNA hasil PCR dipisahkan menggunakan elektroforesis dalam gel agarosa 1% yang sudah diwarnai dengan *ethidium bromide*, lalu *running* selama 60 menit pada 100 V, dan divisualisasi dengan transiluminasi UV.

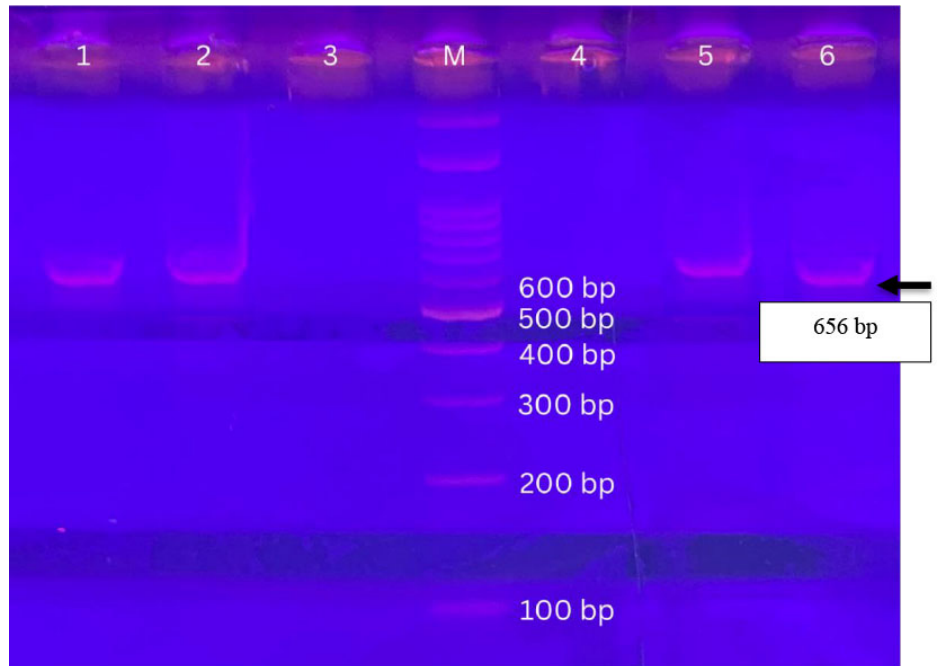
Metode Statistik

Data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif menggunakan SPSS versi 20 dilanjutkan dengan uji *Chi-Square* dengan dikelompokkan berdasarkan variabel penelitian dalam bentuk tabel distribusi frekuensi.

HASIL

Hasil Subkultur Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pada sebanyak 42 sampel *P. aeruginosa* (dengan pembagian berjumlah 21

**Gambar 2.** Hasil elektroforesis pada sampel *P. aeruginosa* MDR dan Non-MDR. (Sampel 1: isolat nomor 8 yang MDR. Sampel 2: isolat nomor 20 yang MDR. Sampel 3 dan 4: kontrol negatif. Sampel M: marker. Sampel 5: isolat nomor 32 yang Non-MDR. Sampel 6: isolat nomor 34 yang Non-MDR)**Tabel 2.** Prevalensi gen *psIA* yang terdeteksi di sampel *P. aeruginosa* MDR dan Non-MDR

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gen <i>psIA</i>				Nilai p
	Positif		Negatif		
	n	%	n	%	
MDR	19	90,47	2	9,53	0.500
Non-MDR	18	85,71	3	14,29	
Total	37	88,09	5	11,91	

sampel MDR dan 21 sampel Non-MDR) yang dilakukan subkultur ditemukan pertumbuhan dari bakteri *P. aeruginosa*. Bakteri *P. aeruginosa* yang MDR dan Non-MDR yang disubkultur pada Mueller Hinton Agar (MHA) ditemukan koloni bakteri yang berbentuk bulatan kecil berwarna putih kecokelatan serta ditemukan pigmen berwarna biru kehijauan pada kuadran pertama seperti pada **Gambar 1**. Berdasarkan hasil pengamatan, ditemukan sebanyak 22 sampel (52,38%) dengan koloni bakteri berbentuk bulat yang berwarna biru kehijauan dan 20 sampel (47,61%) dengan koloni bakteri berbentuk bulat

yang berwarna putih kecokelatan, sehingga didapatkan hasil bahwa strain yang dimiliki oleh isolat klinis bakteri *P. aeruginosa* yang tersimpan menghasilkan pigmen *pyocyanin*, yang membentuk warna biru kehijauan.

Hasil Deteksi Gen *psIA* dengan PCR

Pada isolat klinis *P. Aeruginosa*, dari masing-masing 21 isolat MDR dan Non-MDR, terdeteksi gen *psIA* pada 19 (90,47%) isolat *P. aeruginosa* MDR dan 18 (85,71%) isolat *P. aeruginosa* Non-MDR dengan nilai signifikansi yang tidak bermakna ($p = 0,5$), yang sesuai dengan tabel yang tertera pada **Tabel 2**. Untuk hasil pembacaan di

bawah transiluminasi UV dari produk PCR yang sudah dielektroforesis dapat dilihat pada Gambar 2 di atas.

PEMBAHASAN

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang mampu untuk memproduksi ganda dan memiliki kemampuan untuk melindungi diri dari antimikroba. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki faktor virulensi, salah satunya polisakarida yang diproduksi oleh gen *pslA*.^{11,12} Gen *pslA* sebagai penyandi biofilm memiliki peranan penting sebagai komunikasi antarsel bakteri dan berfungsi dalam pelekatan awal ke permukaan. Biofilm yang terbentuk secara *in vivo* oleh gen *pslA* akan melindungi bakteri dari ancaman seperti antibiotik dan respon imun.¹³ Dengan adanya biofilm yang terbentuk oleh gen *pslA* dapat meningkatkan kesempatan terjadinya *acquired resistance mechanism* akibat transfer gen antar-bakteri dalam biofilm sehingga peneliti menghubungkan gen *pslA* dengan isolat klinis *P. aeruginosa* yang MDR dan Non-MDR. Selain itu, gen *pslA* juga ditemukan pada isolat klinis *P. aeruginosa* dengan angka prevalensi yang tinggi, salah satunya 83,7% sesuai pada penelitian yang dilakukan oleh Ghadaksaza.^{8,9} Dikarenakan keberadaan gen *pslA* di Indonesia belum ada, maka peneliti berencana untuk membuat penelitian dengan tujuan mencari prevalensi gen *pslA* pada isolat klinis bakteri *P. aeruginosa* yang MDR dan Non-MDR pada populasi Indonesia.

Pada penelitian ini diperoleh hasil berupa kemiripan angka prevalensi dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti lainnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Abdulhaq dkk, di Government College University Faisalabad, ditemukan gen *pslA* pada 18 (90%) isolat klinis *P. aeruginosa* yang MDR.¹⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Pournajaf dkk, dari Iran University of Medical Science, ditemukan 143 isolat klinis *P. aeruginosa*, dengan 131 (91,6%) di antaranya Non-MDR, dan pada penelitian ini ditemukan gen *pslA* pada 128 (89,5%) isolat.¹⁵ Pada penelitian yang dilakukan oleh Mallikarjuna & Dhanashree, di India, dari 40 isolat *P. aeruginosa* yang Non-MDR ditemukan prevalensi gen *pslA* pada 33 (82,5%) isolat.¹⁶ Pada penelitian yang

dilakukan oleh Ghadaksaz dkk, dari 104 isolat klinis *P. aeruginosa*, dengan 53 isolat di antaranya yang membentuk biofilm, dan pada penelitian ini juga ditemukan gen *pslA* pada 87 (83,7%) isolat *P. aeruginosa* (Ghadaksaz et al., 2015).⁶ Pada penelitian yang dilakukan oleh Ramazani dkk, di Iran, ditemukan 73 isolat klinis *P. aeruginosa* yang membentuk biofilm dan 66 (90,4%) di antaranya memiliki gen *pslA*.¹⁷ Pada penelitian yang dilakukan oleh Farhan dkk, dari Universitas Suez Canal, Mesir, dari 95 isolat *P. aeruginosa* yang membentuk biofilm ditemukan gen *pslA* pada 89 (94%) isolat, dengan 68 di antaranya terkonfirmasi MDR. Gen *pslA* juga ditemukan pada 23 isolat *P. aeruginosa* yang tidak membentuk biofilm.¹⁸ Pada penelitian yang dilakukan oleh Cho dkk, di Korea, ditemukan gen *pslA* pada 71 (93,4%) isolat *P. aeruginosa* yang membentuk biofilm.⁷

Namun, penelitian yang dilakukan peneliti terdapat perbedaan angka prevalensi gen *pslA* dengan penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti lainnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Eid dkk, ditemukan gen *pslA* pada seluruh 20 isolat klinis *P. aeruginosa* dengan pembagian, 11 dari isolat MDR dan 9 dari isolat Non-MDR.^{19,20} Pada penelitian yang dilakukan oleh Mallikarjuna & Dhanashree, di India, dari 40 isolat *P. aeruginosa* yang MDR, ditemukan prevalensi gen *pslA* pada 28 (70%) isolat MDR.¹⁶

Berdasarkan data yang didapat dari hasil penelitian, gen *pslA* lebih sering ditemukan pada isolat *P. aeruginosa* yang MDR, dibandingkan dengan isolat yang Non-MDR. Namun dari hasil perbandingannya, tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara isolat MDR dengan isolat Non-MDR, sehingga gen *pslA* tidak terkait secara langsung dalam *acquired resistance mechanism* akibat biofilm pada isolat *P. aeruginosa* yang MDR dan Non-MDR. Gen *pslA* tidak dapat membentuk biofilm sendiri, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut terkait keberadaan gen lain yang dapat membentuk terjadinya biofilm pada isolat klinis *P. aeruginosa*.^{8,14}

Selama penelitian yang berlangsung, Peneliti menemukan kelemahan dan keterbatasan yang dapat memengaruhi

hasil dari penelitian ini, berupa: Jumlah sampel *P. aeruginosa* yang dipakai masih kurang banyak, yaitu 21 sampel MDR dan 21 sampel Non-MDR, dan hanya mendeteksi gen *pslA*, salah satu gen dari kluster gen *psl* (gen pembentuk biofilm). Pada penelitian ini murni mencari prevalensi gen *pslA* pada sampel MDR dan sampel Non-MDR, tanpa menguji pembentukan biofilm sehingga tidak diketahui secara *in vitro* apakah sampel pada penelitian ini membentuk biofilm.

KESIMPULAN

Prevalensi gen *pslA* pada isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* yang tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, Denpasar, Bali, yaitu sebanyak 88,09%. Gen *pslA* yang ditemukan pada sampel *P. aeruginosa* yang MDR sebanyak 90,47% dan pada sampel yang Non-MDR sebanyak 85,71%.

ETIKA PENELITIAN

Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan No: 1836/UN14.2.2.VII.14/LT/2023.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam publikasi penelitian ini.

PENDANAAN

Tidak ada bantuan dana.

KONTRIBUSI PENULIS

Seluruh penulis berkontribusi dalam penulisan penelitian dan publikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Sanjaya IGANAP, Fatmawati NND, Hendrayana MA. Prevalensi Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* yang Memiliki Gen *lasI* dan *lasR* di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Tahun 2013 – 2016. E-Jurnal Med. 2019;8(6):1–7.
- Sasmana IGAP, Halim W, Jaya NKAAS, Atmaja MAK, Ergar C, Sutedja JC, et al. Knowledge Level of COVID-19 Prevention in Banjar Gambang Communities, Seraya Village, Karangasem, Indonesia. Althea Med J. 2023;10(2):61–8.

3. Budayanti NS, Aisyah DN, Fatmawati NND, Tarini NMA, Kozlakidis Z, Adisasmito W. Identification and Distribution of Pathogens in a Major Tertiary Hospital of Indonesia. *Front Public Heal*. 2020;
4. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*. 2019.
5. Wuisan C, Rampengan SH, Korompis M. Factors related to the implementation of universal precautions by nurses in the inpatient unit (IRINA F) Prof. Dr. R. D. Kandou Central General Hospital Manado. *Bali Med J*. 2017;6(1):68.
6. Praptiningsih RS, Nurhapsari A, Febrian RW. The Effectiveness of α -Mangostin in Reducing the *Streptococcus Mutans* Biofilm Thickness. *Insisiva Dent J Maj Kedokt Gigi Insisiva*. 2022;11(2):progress.
7. Yin R, Cheng J, Wang J, Li P, Lin J. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infectious biofilms: Challenges and strategies. *Front Microbiol*. 2022;13(August):1–16.
8. Ghadaksaz A, Imani Fooladi AA, Hosseini HM, Amin M. The prevalence of some *Pseudomonas* virulence genes related to biofilm formation and alginate production among clinical isolates. *J Appl Biomed*. 2015;13(1):61–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jab.2014.05.002>
9. Heidari R, Farajzadeh Sheikh A, Hashemzadeh M, Farshadzadeh Z, Salmanzadeh S, Saki M. Antibiotic resistance, biofilm production ability and genetic diversity of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections in southwestern Iran. *Mol Biol Rep*. 2022;49(5):3811–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07225-3>
10. Tandio DA, Manuaba AP. Safety Procedure for Biosafety and Controlling a Communicable Disease: *Streptococcus Suis*. *Bali Med J*. 2016;5(2):74.
11. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017.
12. Al-Shabib NA, Husain FM, Ahmad I, Khan MS, Khan RA, Khan JM. Rutin inhibits mono and multi-species biofilm formation by foodborne drug resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*. 2017;79:325–32.
13. Sadeva IGKA, Wulandari PA, Prasetyo AV, Wahyuntika LPN, Rahadi PNK, Sasmana IGAP, et al. Analysis of quorum-sensing and antibiofilm activity by pomelo peel extract (*Citrus maxima*) on multidrug-resistance *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomed*. 2022;12(4):20–33.
14. Abdulhaq N, Nawaz Z, Zahoor MA, Siddique AB. Association of biofilm formation with multi drug resistance in clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa*. *EXCLI J*. 2020;19:201–8.
15. Pournajaf A, Razavi S, Irajian G, Ardebili A, Erfani Y, Solgi S, et al. Integron types, antimicrobial resistance genes, virulence gene profile, alginate production and biofilm formation in Iranian cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Le Infez Med*. 2018;26(3):226–36.
16. Mallikarjuna P V, Dhanashree B. Phenotypic and genotypic characterization of clinical *Pseudomonas aeruginosa*. *J Taibah Univ Med Sci*. 2023;18(3):480–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2022.10.012>
17. Ramazani R, Amoli RI, Armaki MT, Pournajaf A, Kaboosi H. A molecular New Update on the Biofilm Production and Carbapenem Resistance Mechanisms in Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *Iran J Med Microbiol*. 2022;16(6):557–65.
18. Rustini R, Jamsari J, Marlina M, Zubir N, Yuliandra Y. Antibacterial resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical samples at a general hospital in Padang, West Sumatra, Indonesia. *Asian J Pharm Clin Res*. 2017;
19. Sousa AM, Pereira MO. *Pseudomonas Aeruginosa* diversification during infection development in cystic fibrosis Lungs-A review. *Pathogens*. 2014;3(3):680–703.
20. Guzzo F, Scognamiglio M, Fiorentino A, Buommino E, D'abrosca B. Plant Derived Natural Products against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Antibiofilm Activity and Molecular Mechanisms. *Molecules*. 2020;25(21).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution