

TESIS

**ANALISIS PERBANDINGAN PEMBENTUKAN BIOFILM
BAKTERI *Staphylococcus* Koagulase-Negatif (CoNS) PADA
BEBERAPA JENIS CAIRAN INFUS BERDASARKAN WAKTU**



**SITI FATKHUL JANNAH
012014153010**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**ANALISIS PERBANDINGAN PEMBENTUKAN BIOFILM
BAKTERI *Staphylococcus* Koagulase-Negatif (CoNS) PADA
BEBERAPA JENIS CAIRAN INFUS BERDASARKAN WAKTU**

SITI FATKHUL JANNAH

012014153010

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**ANALISIS PERBANDINGAN PEMBENTUKAN BIOFILM
BAKTERI *Staphylococcus* Koagulase-Negatif (CoNS) PADA
BEBERAPA JENIS CAIRAN INFUS BERDASARKAN WAKTU**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Sains
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

SITI FATKHUL JANNAH

012014153010

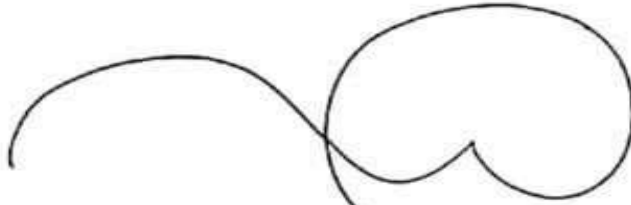
**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2022

**LEMBAR PENGESAHAN
TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL: 16 DESEMBER 2022**

Oleh

Pembimbing Utama



Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK
NIP. 197504072006041001

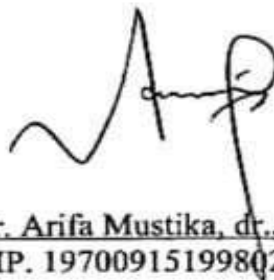
Pembimbing Kedua



Dr. Rebekah Juniati Setiabudi, dr., M.Si
NIP. 196606061997022001

Mengetahui

**Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si
NIP. 197009151998022001

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji
pada Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 16 Desember 2022

Panitia Penguji,

Ketua : Dr. Manik Retno Wahyunitisari, dr., M.Kes

Anggota :

1. Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK
2. Dr. Rebekah Juniati Setiabudi, dr., M.Si
3. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes
4. Dr. Muhammad Vitanata Arfijanto, dr. Sp.PD., K-PTI, FINASIM

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Tesis

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya atas keberhasilan dan kelancaran kepada penulis hingga tersusunnya naskah tesis yang berjudul “ANALISIS PERBANDINGAN PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI *Staphylococcus* Koagulase-Negatif (CoNS) PADA BEBERAPA JENIS CAIRAN INFUS BERDASARKAN WAKTU”. Penyusunan naskah tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Penulis berterima kasih kepada semua pihak yang telah membantu mulai dari awal persiapan, proses penelitian, hingga tersusunnya naskah tesis ini. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., M.T., Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga, beserta seluruh civitas akademik.
2. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, beserta seluruh wakil dekan.
3. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Dasar yang selalu memberi dorongan dan semangat dalam penyelesaian tesis ini.
4. Arthur Pohan Kawilarang, dr., M.Kes., Sp.MK(K) selaku Ketua Minat Mikrobiologi yang senantiasa memberi semangat dan motivasi dalam penyelesaian tesis ini.
5. Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK selaku dosen pembimbing I dan Dr. Rebekah Juniati Setiabudi, dr., M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan segenap waktu, ilmu, bimbingan, saran, dan nasehat yang sangat berharga dalam penyelesaian tesis ini.
6. Dr. Manik Retno Wahyunitisari, dr., M.Kes., Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., dan Dr. Muhammad Vitanata Arfijanto, dr. Sp.PD., K-PTI, FINASIM selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu, ilmu, arahan dan perbaikan dalam penyelesaian tesis ini.

7. Bapak dan Ibu Dosen di Fakultas Kedokteran khususnya Departemen Mikrobiologi yang telah tulus dan ikhlas memberikan ilmu selama perkuliahan hingga bertambahnya wawasan penulis.
8. Bapak dan Ibu Staf Administrasi Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah membantu urusan administrasi selama perkuliahan hingga saat ini.
9. Bapak dan Ibu Laboran di Laboratorium Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga serta *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga yang telah banyak membantu keberhasilan terlaksananya penelitian dalam rangka pengumpulan data tesis.
10. Bapak (Almarhum), Ibu, Kakak, Adik-adik, ayah dan ibu mertua, saudara ipar dan semua keluarga besar yang selalu memberikan dukungan, kasih sayang, dan doa kepada penulis.
11. Suamiku, Muhammad Rizal Fahmi dan anak kami, Muhammad Ashraf Ariyanta yang selalu memberikan dorongan, motivasi, kasih sayang, dan doa kepada penulis hingga terselesaikannya tesis ini.
12. Teman-teman Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Dasar angkatan ganjil 2020 yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang saling memberikan dukungan, motivasi dan semangat dalam penyelesaian tesis ini.
13. Semua pihak yang turut membantu mulai dari awal proses penelitian hingga penulisan naskah tesis yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan dukungan yang diberikan.

Penulisan dan penyusunan tesis ini sangat jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima sebesar-besarnya kritik dan saran agar tesis ini menjadi lebih baik lagi. Selanjutnya penulis berharap bahwa tesis ini dapat memberikan manfaat baik secara langsung maupun tidak langsung.

Surabaya, 16 Desember 2022

Siti Fatkhul Jannah

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Siti Fatkhul Jannah
NIM : 012014153010
Program Studi : Ilmu Kedokteran Dasar
Fakultas : Kedokteran
Jenjang : Magister (S2)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan tesis saya yang berjudul:

**ANALISIS PERBANDINGAN PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI
Staphylococcus KOAGULASE-NEGATIF (CoNS) PADA BEBERAPA
JENIS CAIRAN INFUS BERDASARKAN WAKTU**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 16 Desember 2022


Siti Fatkhul Jannah
NIM. 012014153010

SUMMARY

Infection acquired by patients from the hospital is called nosocomial infection which a result of the interactions between pathogens, patients, practices, and places. Nowadays, the number of infections is associated with the higher application of medical devices and immunocompromised patients in the hospital because medical devices can be source of infection. One of the common medical devices used is intravenous catheter, which is a procedure to inject the fluid, electrolyte, drugs, blood, and parenteral nutrition into the body through the intravenous vessels due to replace body fluids especially in case of severe dehydration and shock. Coagulase-negative Staphylococcus is a normal flora in the skin, but it can penetrate the skin trough the intravenous catheter and form biofilm. Microorganisms can grow on a surface and produce extracellular polimer substances (EPS) and form biofilm within 18-48 hours of incubation. The formation of biofilm cause problem health such as bacteriemia and antibiotic resistant.

Many previous studies have proven that biofilm can grow on the surface of intravenous catheter in patients with insertion of three days or more. The researcher wants to further investigate whether intravenous fluid also affect the biofilm formation or not in the insertion of intravenous catheter. This research was aimed to determine the comparison of biofilm formation of Coagulase-Negative Staphylococcus bacteria especially Staphylococcus epidermidis in several types of infusion fluid such as ringer lactate, dextrose 10%, dextrose 5%, normal saline, and gelafusal based on incubation time of 24, 48, and 72 hours. This was a laboratory experimental research with 33 treatments and 6 times repetition for each treatment, using microtiter plate assay method and crystal violet coloring. The data obtained from the reading of microplate reader with 595 nm wavelength was analyzed statistically by Kruskal-Wallis and continued with Mann-Whitney.

The result showed that all infusion fluid with bacteria in 24-, 48-, and 72-hours treatment had significant differences compared the positive control (bacteria grown in TSB). The infusion fluid with bacteria in 24 hours did not show the significant differences compared the negative control (infusion fluid only), and the average optical density ranges from 0,177 to 0,237. The infusion fluid with bacteria in 48 hours did not show the significant differences compared the negative control, and the average optical density ranges from 0,242 to 0,293. Three infusion fluid with bacteria in 72 hours treatments (dextrose 10% with average OD value of 0,732; dextrose 5% with average OD value of 0,522; and normal saline with average OD value of 0,658) showed the significant differences compared the negative control, while the two others (ringer lactate with average OD value of 0,451 and gelafusal with average OD value of 0,590) did not have the significant differences compared the negative control.

The use of intravenous catheter can be an intermediary for the entry of Coagulase-negative Staphylococcus bacteria which can form biofilm and cause infection or bacteriemia. The use of infusion fluid of intravenous catheter within 24 and 48 hours did not affect the formation of Staphylococcus epidermidis' biofilm, but in three days (72 hours) or more, biofilm formation may begin to occur especially in dextrose 10%, dextrose 5%, and normal saline. It's very important to avoid and minimize the contamination and biofilm forming on intravenous catheter by applying aseptic installation procedures. The use of intravenous catheter should not more than three days, but if already seen infection signs or phlebitis before three days, it must be replaced soon. The infusion fluid had little effect on biofilm growth of Staphylococcus epidermidis, but it is necessary to do next research about biofilm formation on infusion fluid using other bacterias which can cause bacteriemia.

ABSTRACT

Analysis of Staphylococcus epidermidis Biofilm Formation in Several Types of Intravenous Fluids Based on Time

Siti Fatkhul Jannah

An intravenous catheter is a medical device used to inject intravenous fluid into the body. This procedure can lead coagulase-negative staphylococci (CoNS) bacteria such as Staphylococcus epidermidis penetrates the skin and forms biofilm on the catheter. Biofilms bring serious problems such as antibiotic resistance, the long-term effects increase the length of staying in the hospital, cost, morbidity, and mortality. This research aimed to analyze the biofilm formation of S. epidermidis in several types of intravenous fluids based on time. This was a laboratory experimental research using the microtiter plate assay method and crystal violet coloring. Three 96-well microplates were inoculated with S. epidermidis in ringer lactate, 10% dextrose, 5% dextrose, normal saline, and gelafusal, each plate was incubated at three different times of 24, 48, and 72 h respectively. The data obtained from the reading of microplate reader with 595 nm wavelength was analyzed by SPSS statistics using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test. The results show that the optical density (OD) values of all intravenous fluids with bacteria within 24 and 48 h of incubation time did not show significant differences compared to negative controls, while the 72 h treatments of 10% dextrose, 5% dextrose, and normal saline showed significant differences. This indicates that biofilms of S. epidermidis were not formed in intravenous fluids within 24 and 48 h of incubation time, however this bacterium started forming biofilm in 10% dextrose, 5% dextrose, and normal saline within 72 h of incubation time.

Keywords: Biofilm, Incubation Time, Intravenous Fluids, Optical Density, Staphylococcus epidermidis

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Prasyarat Gelar.....	iii
Lembar Pengesahan	iv
Lembar Penetapan Panitia Penguji.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Lembar Orisinalitas	viii
<i>Summary</i>	ix
<i>Abstract</i>	xi
Daftar Isi.....	xii
Daftar Tabel	xv
Daftar Gambar.....	xvi
Daftar Lampiran	xvii
Daftar Singkatan.....	xviii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan umum.....	6
1.3.2 Tujuan khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat praktis.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Biofilm.....	8
2.1.1 Mekanisme pembentukan biofilm	9
2.1.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan biofilm.....	12
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus koagulase negative</i> (CoNS)	15
2.2.1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	17
2.2.2 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	19
2.2.3 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	19
2.2.4 <i>Staphylococcus lungdunensis</i>	19
2.3 Metabolisme Bakteri <i>S. epidermidis</i>	20
2.4 Infeksi Nosokomial.....	22
2.4.1 Bakteriemia.....	23
2.5 Pemasangan Infus	24
2.6 Cairan Infus	27
2.6.1 Ringer Laktat	31
2.6.2 Dekstrose 10%.....	32
2.6.3 Dekstrose 5%.....	32

2.6.4	Normal Saline	33
2.6.5	Gelafusal	34
2.7	Waktu Inkubasi	34
2.8	Metode Pemeriksaan Biofilm	36
2.9	Aquades	37
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		38
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	38
3.2	Uraian Kerangka Konseptual Penelitian	39
3.3	Hipotesis Penelitian	43
BAB IV METODE PENELITIAN		44
4.1	Rancangan Penelitian	44
4.2	Subjek dan Objek Penelitian	46
4.2.1	Subjek penelitian	46
4.2.2	Objek penelitian	46
4.3	Teknik Pengambilan Data	46
4.4	Variabel Penelitian	47
4.5	Definisi Operasional Variabel	47
4.6	Alat dan Bahan Penelitian	48
4.6.1	Alat penelitian	48
4.6.2	Bahan penelitian	48
4.7	Tempat dan Waktu Penelitian	49
4.7.1	Tempat penelitian	49
4.7.2	Waktu penelitian	49
4.8	Prosedur Pengumpulan Data	49
4.8.1	Sterilisasi alat	49
4.8.2	Pembuatan media kultur	50
4.8.3	Persiapan dan peremajaan bakteri <i>Staphylococcus</i> koagulase-negatif	51
4.8.4	Pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus</i> Koagulase-Negatif (CoNS)	51
4.8.5	Penyetaraan Suspensi dengan Standar McFarland 0,5	52
4.8.6	Uji pertumbuhan biofilm	52
4.9	Analisis Data	54
4.10	Diagram Penelitian	55
BAB V HASIL PENELITIAN		56
5.1	Hasil Analisis Nilai OD (<i>Optical Density</i>) Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus</i>	58
5.2	Hasil Analisis Nilai OD (<i>Optical Density</i>) Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus</i> koagulase negatif (CoNS) pada Beberapa Jenis Cairan Infus Berdasarkan Waktu 48 Jam	61
5.3	Hasil Analisis Nilai OD (<i>Optical Density</i>) Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus</i> koagulase negatif (CoNS) pada Beberapa Jenis Cairan Infus Berdasarkan Waktu 72 Jam	64

BAB VI PEMBAHASAN.....	68
6.1 Analisis Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus</i> Koagulase Negatif (CoNS) pada Beberapa Jenis Cairan Infus Berdasarkan Waktu 24 Jam.....	70
6.2 Analisis Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus</i> Koagulase Negatif (CoNS) pada Beberapa Jenis Cairan Infus Berdasarkan Waktu 48 Jam.....	72
6.3 Analisis Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus</i> Koagulase Negatif (CoNS) pada Beberapa Jenis Cairan Infus Berdasarkan Waktu 72 Jam.....	74
BAB VII PENUTUP	79
7.1 Kesimpulan	79
7.2 Saran	80
DAFTAR PUSTAKA	81

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Rancangan penelitian	45
Tabel 4.2 Definisi operasional variabel	47
Tabel 4.3 Rencana waktu pelaksanaan penelitian.....	49
Tabel 5.1 Rata-rata nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 24, 48, dan 72 jam	56
Tabel 5.2 Hasil analisis nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 24 jam.....	59
Tabel 5.3 Hasil analisis nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 48 jam.....	61
Tabel 5.4 Hasil analisis nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 72 jam.....	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Skema pembentukan biofilm bakteri <i>S. epidermidis</i> yang diamati di bawah mikroskop elektron (SEM)	10
Gambar 2.2 Visualisasi biofilm <i>S. epidermidis</i> yang terbentuk pada <i>stainless steel</i> setelah 18 jam inkubasi dan diamati di bawah mikroskop elektron.....	18
Gambar 3.1 Kerangka konseptual	38
Gambar 4.1 Alur diagram penelitian.....	55
Gambar 5.1 Grafik analisis nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 24 jam	60
Gambar 5.2 Grafik analisis nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 48 jam	63
Gambar 5.3 Grafik analisis nilai OD biofilm bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada beberapa jenis cairan infus berdasarkan waktu 72 jam	66

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Pengukuran Nilai OD Biofilm	90
Lampiran 2. Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS	94
Lampiran 3. Surat Ijin Kelaikan Etik	118
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian	119

DAFTAR SINGKATAN

Agr	: <i>Accessory gene regulator</i>
AtIE	: <i>Autolysin</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
BSI	: <i>Blood Stream Infection</i>
CoNS	: <i>Coagulase-Negative Staphylococcus</i>
DNA	: <i>DeoxyriboNucleic Acid</i>
C-F	: Karbon-Fluor
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
C-H	: Karbon-Hidrogen
CVC	: <i>Central Vena Catether</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPS	: <i>Extracellular Polimer Substances</i>
HBF	: <i>High-Biofilm-Former</i>
IGD	: Instalasi Gawat Darurat
KCN	: <i>Potassium Cyanide</i>
MBF	: <i>Moderate-Biofilm-Former</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
NAP	: <i>Nutrient Agar Plate</i>
NBF	: <i>Non-Biofilm-Former</i>
NICU	: <i>Neonatal Intensive-Care Unit</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
pH	: <i>Potencial of Hydrogen</i>
PIA	: <i>Polysaccharide Intercellular Adhesin</i>
SD	: Standar Deviasi
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCA	: <i>Tricarboxylic Acid</i>
TCP	: <i>Tissue Culture Plate</i>
TSB	: <i>Trypticase Soy Broth</i>
WBF	: <i>Weak-Biofilm-Former</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>