

BAB 6

PEMBAHASAN

Infeksi biofilm banyak dijumpai dalam kasus medis sehari-hari. Infeksi bakteri manusia berhubungan dengan biofilm sebesar 80% (Römling & Balsalobre, 2012). Biofilm sulit dievaluasi dengan penglihatan biasa, cukup mahal bila menggunakan teknik mikroskopik yaitu mikroskop elektron (Hurlow et al., 2014). Biofilm yang terdiri dari beberapa spesies lebih patogenik dibanding yang hanya terdiri dari satu spesies mikroorganisme, dan spesies yang berbeda memperlihatkan perbedaan virulensi yang berbeda pula (Seth et al., 2012).

Pembentukan biofilm melalui pemakaian medical devices (alat-alat medis) sangat berperan terhadap terjadinya infeksi nosokomial, khususnya pada pasien dengan perawatan intensif. Infeksi yang berhubungan dengan alat medis dapat menjadi permasalahan yang besar dibidang medis dan permasalahan tersebut berakhir menjadi permasalahan ekonomi. Kolonisasi bakteri pada alat medis menjadi awal dari infeksi dan malfungsi dari alat medis tersebut.

Mikroorganisme umumnya akan melekat pada permukaan dan memproduksi ekstraseluler polisakarida, yang menghasilkan bentukan dari biofilm. Biofilm inilah yang menyebabkan masalah kesehatan bagi masyarakat karena menyebabkan meningkatnya resistensi antibiotik dan organisme yang melekat tersebut berpotensi menjadi penyebab infeksi pada pasien karena penggunaan medical device.

Mikroorganisme pada biofilm dalam keadaan bertumbuh, yang mana menyebabkan infeksi kronik pada jaringan dan juga pada permukaan medical

devices. Dampak dari pertumbuhan mikroorganisme dalam biofilm adalah infeksi menjadi lebih sulit untuk diterapi dan secara fisiologis lebih resisten terhadap antibiotik dan desinfektan (Høiby, 2010). Ditambah lagi, terapi antibiotik berdasarkan uji kepekaan antibiotik pada mikroorganisme planktonic berhubungan dengan gagalnya terapi dan terjadinya infeksi yang berulang. Oleh karena itu, dibutuhkan panduan untuk menentukan adanya biofilm dari seorang mikrobiologi klinik dan spesialisasi dari penyakit infeksi. Panduan ini diperuntukkan untuk diagnosis dan terapi kasus infeksi biofilm. Biofilm bertanggung jawab pada kejadian infeksi nosokomial dan infeksi kronis (Hall-Stoodley L et al, 2009, Shirtliff M et al, 2009). Biofilm dapat terbentuk pada anatomi struktur saluran genitourinari dan menyebabkan infeksi saluran kemih kronis. Studi yang dilakukan sejauh ini berhubungan dengan keduanya pembentukan biofilm hanya dalam kasus CAUTI atau pembentukan biofilm dengan cara tertentu (Singh, 2007).

Keberadaan faktor device dapat meningkatnya virulensi bakteri. Analisis data untuk perlekatan bakteri pada permukaan device memiliki 5 prinsip, yaitu: (1) Bakteri yang berbeda dapat melekat dengan cara yang berbeda pada device dengan bahan yang sama. (2) Bakteri yang sama dapat melekat dengan cara berbeda pada device dengan bahan yang berbeda. (3) Bakteri yang sama dapat melekat secara berbeda pada device dengan bahan yang sama yang ditempatkan pada suasana yang berbeda, termasuk di media dimana device tersebut ditempatkan (media hidropobik atau media hidrofilik), tipe arus yang mengalir (dinamis atau statis), dan temperatur (4) Pada inhibisi in vitro terhadap kolonisasi bakteri pada device tidak dapat menentukan ketidakefektifan efektivitas dari in vivo (5) Keuntungan klinis dari

pendekatan modifikasi permukaan tertentu dapat berbeda dari satu bakteri dengan yang lainnya (Darouiche, 2001)

Faktor host dibedakan atas dua, yaitu: (1) Faktor host yang dapat menyebabkan perlekatan bakteri pada device, (2) Faktor host yang dapat mendorong atau menghambat keberadaan bakteri yang sudah melekat pada permukaan device. Banyak penelitian menyatakan bahwa *S.aureus* melekat lebih banyak pada permukaan kateter vaskular dan *E.coli* melekat lebih banyak pada biliary stents, yang mengandung host-tissue ligand pada permukaan device, terutama fibronectin. Pada kebanyakan penelitian yang ada, mediator imunologik dapat menghambat keberadaan bakteri yang telah melekat pada permukaan device adalah $INF-\gamma$. $INF-\gamma$ bekerja dengan cara merangsang histocompatibility complex Class II,

Penggunaan IV Line dan CVC merupakan kateter intravaskular yang digunakan untuk memasukkan cairan, obat, nutrisi secara parenteral, dan produk dari darah; yang digunakan untuk memonitor status hemodinamik, dan untuk keperluan hemodialisis (Mermel et al., 2001). Device ini memperlihatkan bahwa device intravaskular lebih berisiko menjadi device-related infection dibandingkan dengan medical device lainnya (Maki, 1994; Klevens et al., 2005). Mikroorganisme dapat mengkolonisasi kedua permukaan eksternal dan luminal kateter (Raad et al., 1993).

Biofilm dapat terbentuk dalam 3 hari saat kateter mulai dimasukkan (Anaissie et al., 1995). Telah di laporkan oleh Raad et al., pada tahun 1993 bahwa kateter yang dimasukkan kurang dari 10 hari lebih banyak kolonisasinya pada

permukaan eksternal dibandingkan kateter jangka panjang (lebih dari 30 hari), tetapi pembentukan biofilm dalam lumen kateter lebih mendominasi di dalam lumen kateter.

Mikroorganisme yang mengkolonisasi kateter dapat berasal dari kulit di tempat pemasangan dan bermigrasi sepanjang permukaan kateter atau dari pusat kateter, berkaitan dengan penanganan oleh tenaga medis, dimana terdapat kasus mikroorganisme berpindah sampai ke dalam lumen (Raad et al., 1997).

Mikroorganisme tersebut juga dapat menyebar secara hematogen dari device yang terinfeksi ke tempat lain melalui kateter pasien (tenke et al., 1995). Platelet, plasma dan protein seperti fibronectin, fibrin dan laminin akan terabsorpsi ke permukaan kateter setelah kateter tersebut masuk peredaran darah (Raad et al., 1998) dan material-material ini akan mengubah karakteristik permukaan dan mengakibatkan terjadinya perlekatan mikroba (Murga et al., 2001).

Hasil pola distribusi infeksi yang diperoleh dalam penelitian ini dimana infeksi saluran kencing (UTI) menempati urutan pertama infeksi terbanyak yang disebabkan *Enterococcus faecalis* didukung oleh penelitian Talebi et al (2015) yang menyatakan hal serupa. Infeksi saluran kencing berperan sebesar 25%-40% terjadinya infeksi nosokomial dan merupakan jenis infeksi yang paling banyak (Maki & Tambyah, 2001; Foxman, 2003). Biaya perawatan tiap tahunnya akibat infeksi saluran kencing diperkirakan 1,6 milyar (Foxman, 2003). Faktor risiko infeksi saluran kencing semakin meningkat secara signifikan akibat penggunaan device seperti kateter dan stent uretral/spinkter. Indwelling catheter merupakan device yang berkontribusi paling banyak menyebabkan infeksi. Penggunaan kateter

urin banyak digunakan saat perawatan di rumah dan bagi pasien yang mengalami cedera tulang belakang sehingga menjadi rentan terhadap infeksi. Meningkatnya faktor risiko catheter-associated urinary tract infection meningkat 5% tiap harinya oleh penggunaan kateter dan hal ini disebabkan karena kolonisasi bakteri terjadi setelah hari ke - 30 (Maki and Tambyah, 2001).

Menurut Tenke et al. (2006), *Enterococcus faecalis* merupakan patogen dominan pada infeksi saluran kencing setelah *Escherichia coli* (25%), yaitu sebesar 16%. Patogen ini umumnya ditemukan dalam saluran pencernaan bagian bawah dan dapat masuk ke dalam saluran kencing melalui device yang terkontaminasi.

Syarat utama terdapatnya bentukan biofilm pada kateter urin adalah terdapatnya komponen dari saluran kencing sehingga slime biofilm terbentuk, yaitu polisakarida dan protein (Tenke et al., 2006). Keunikan dari bentukan biofilm adalah terbentuknya *crystalline* pada kateter oleh mikroorganisme yang memproduksi urease. Terjadinya *crystalline* pada biofilm kateter urin terjadi melalui beberapa langkah, yaitu: (1) Terdapat mikroorganisme yang memproduksi urease. (2) Pembentukan film/slime pada permukaan kateter. (3) Bakteri melekat pada kateter. (4) Biofilm berkembang dan memproduksi *exopolisakarida*. (5) Tingginya pH urin sehingga biofilm terbentuk oleh mikroorganisme yang menghasilkan urease. (6) Kristalisasi oleh *calcium* dan *magnesium phosphate* didalam matriks biofilm (Morris et al., 1999)

Pada lower respiration tract, kemampuan kolonisasi enterococci pada saluran pernapasan sangat tinggi, namun insiden kejadian LRTI terkait

enterococcal kecil. Menurut MacEachern et al (2005), Enterococci yang terdeteksi sebagai flora normal oral sebesar 60% -75% pada usia 20-40 tahun, namun enterococci ditemukan menginfeksi saluran pernapasan pada 25%-83% pasien kritis maupun yang menggunakan ventilasi mekanis. Infeksi lower respiration tract termasuk pneumonia meliputi 2 tahap. Tahap pertama menunjukkan kolonisasi awal, yang biasanya asimtomatik dan diikuti oleh tahap kedua yang merupakan tahap invasi jaringan pada pasien tertentu. Dalam hal ini sangat dipengaruhi oleh faktor endogen dan / atau eksogen diperlukan untuk terjadinya patogenesis enterococcus pada kedua tahap ini, yaitu kemampuan mengikat fibronektin untuk melekat pada sel epitel saluran pernapasan (Grupper et al, 2007)

Pada pengguna ventilator mekanis, diketahui bahwa endotracheal tube (ET) bertindak sebagai reservoir mikroorganisme untuk menginfeksi. Segera setelah intubasi, biofilm campuran yang mengandung mikroba patogen terbentuk pada ET, terutama lapisan di bagian dalam tabung distal ketiga (Pneumatikos et al, 2009). Redman dan Lockey pertama kali menunjukkan kolonisasi bakteri ET dengan mengkulturkan ujung distal ET dan pada tahun 1986 Sottile et al. adalah yang pertama menggunakan mikroskop pemindaian untuk menunjukkan keberadaan biofilm pada permukaan bagian dalam polivinilklorida ETs (Sotile et al, 1986)

Urutan kolonisasi dengan bakteri patogen pada pasien dengan ventilasi mekanis pertama kali dilaporkan oleh Feldman et al (1999) adalah sebagai berikut: orofaring (dalam 36 jam), lambung (dalam 36-60 jam), saluran pernapasan bawah (dalam 60-84 jam) dan setelah itu ET (dalam 60-96 jam). Menurut Yan et al. (2008)

biofilm ditemui pada permukaan ET setelah 2-7 hari inisiasi ventilasi, 87,5% ET ditutup oleh biofilm setelah 7-10 hari. Hari 10 semua ET ditutupi biofilm.

Beberapa mekanisme bertanggung jawab atas keterlibatan biofilm ET dalam patogenesis Ventilator Associated Pneumonia (VAP), yaitu potongan biofilm terdispersi dan dipindahkan secara pasif ke paru-paru, sel biofilm dalam bentuk aerosol lalu tersedot ke paru-paru karena aliran gas selama ventilasi buatan dan sel-sel individual dapat terbawa cairan dan dipindahkan ke jaringan paru-paru (Pan et al, 2017)

Ada banyak pedoman strategi yang direkomendasikan untuk pencegahan VAP antara lain dengan menghindari penggunaan ET jika memungkinkan. Penggunaan ventilasi non-invasif dapat menurunkan tingkat intubasi trakea dan bahkan kematian, bukti yang tersedia menunjukkan manfaat yang jelas dalam hal risiko VAP yang lebih rendah (Pneumatikos et al, 2009). Selain itu kebijakan lainnya berupa ekstubasi dini, yang harus menjadi prosedur standar dan di rumah sakit. Beberapa peneliti menyarankan bahwa untuk mencegah penggunaan jangka panjang ET, maka dapat dilakukan trakeostomi dini, yang secara signifikan mengurangi durasi ventilasi mekanis dan lama tinggal di ICU. Namun biofilm juga dapat terbentuk pada permukaan tabung trakeostomi, meskipun metode pembersihan dan pemeliharaannya menjadi lebih mudah, yaitu dengan melakukan disinfeksi (Silva et al, 2013).

Selain infeksi saluran kencing maupun infeksi saluran napas bawah termasuk pneumonia, infeksi utama *Enterococcus faecalis* dengan mortalitas yang tinggi adalah sepsis maupun bakteremia. Faktor virulensi *Enterococcus faecalis*

meliputi protein permukaan enterococcal (Esp), gelatinase, dan hemolisin. Strain *Enterococcus faecalis* yang memproduksi gelatinase dan hemolisin terbukti mengakibatkan bakteremia dan sepsis berat (Centikaya et al, 2000) Hemolysin dikenal sebagai protein sitolitik yang mampu melisis eritrosit manusia, kuda, dan kelinci. Gelatinase adalah protease yang diproduksi oleh *Enterococcus faecalis* yang mampu menghidrolisis gelatin, kolagen, kasein, hemoglobin, dan peptida lainnya (Kreft et al, 1992). Protein permukaan enterococcal (Esp) merupakan protein terikat dinding *Enterococcus faecalis*. Selain berkaitan dengan virulensi bakteri secara langsung adanya protein ini juga berkaitan dengan resistensi antibiotik, khususnya resistensi gentamisin tingkat tinggi sehingga berhubungan dengan peningkatan risiko kematian (Huycke et al, 1991).

Menurut Vergis et al (2002) faktor virulensi *Enterococcus faecalis* seperti Esp gene, gelatinase, dan hemolisin tidak berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit. Namun ada hubungan antara faktor virulensi dengan kejadian infeksi invasif. Hasil ini berbeda dengan studi klinis pada hewan coba dengan bakteremia, yang mana faktor virulensi berkorelasi dengan kondisi immunosupresi, keparahan penyakit, dan komorbiditas. Jadi, pada pasien dengan bakteremia *E. faecalis*, keparahan penyakit secara fisiologis berdampak lebih besar pada outcome dan sangat memungkinkan faktor virulensi berperan penting pada kejadian penyakit invasif.

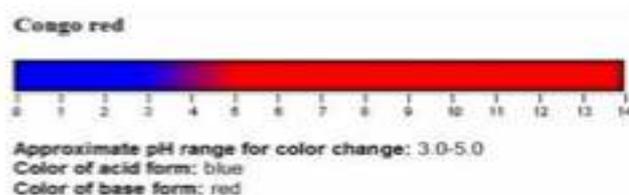
Menurut Murray (2000), infeksi enterococcal serius disebabkan oleh peningkatan prevalensi host immunocompromised, hilangnya pertahanan host secara anatomis (misal pemasangan kateter intravaskular) dan penekanan respon

seluler host oleh iatrogenik atau autoimun; penggunaan antimikroba yang berlebihan yang berakibat superinfeksi enterococci dan resistensi tingkat tinggi terhadap penisilin / ampisilin, aminoglikosida, dan glikopeptida; serta kesulitan mengendalikan penyebaran horizontal strain multiresistant pada pasien dan lingkungan. Tingginya insidensi infeksi *Enterococcus faecalis* berat berakibat meningkatnya morbiditas dan mortalitas serta biaya rumah sakit dan lama rawat inap (Linden, 2003)

Deteksi pembentukan biofilm *Enterococcus faecalis* dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain Microtiter Plate Assay, Congo red Agar maupun Modified Congo red Agar. Pengerjaan inokulasi *Enterococcus faecalis* dengan metode CRA dilakukan dengan cara dilakukan streaking pada lempeng CRA, kemudian dilakukan evaluasi secara visual pada masing-masing koloni, setelah diinkubasi selama 24 atau hingga 48 jam. Streaking ini menimbulkan perbedaan subjektif pada klasifikasi karena variasi di antara warna koloni yang ditimbulkan oleh bakteri. Arciola et al. (2002) mengusulkan suatu skala colorimetric dengan rentang warna dari sangat merah hingga sangat hitam dengan enam gradasi warna, yaitu sangat merah, merah, Bordeaux (merah tua), agak hitam, hitam dan sangat hitam untuk klasifikasi produksi biofilm.

Mekanisme perubahan warna koloni pada media CRA terjadi karena cat Congo red akan berinteraksi dengan polisakarida yang merupakan hasil metabolik sekunder dari bakteri dan juga media pertumbuhan sehingga membentuk kompleks warna dengan cat yang menyebabkan koloni tampak berwarna gelap (Jain dan Agarwal, 2009). Bakteri memfermentasi gula-gula

atau polisakarida yang diperlukan untuk menghasilkan metabolit tertentu, yang berkombinasi dengan Congo red sehingga memberi warna hitam pada koloni yang menandakan terbentuknya biofilm (Makhija et al, 1995). Indikator Congo Red Congo red yang digunakan dalam pembuatan media merupakan suatu garam sodium 3,3'-([1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(4-aminonaphthalene-1-sulfonic acid), dengan rumus kimia: $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$; dengan berat molekul: 696.66 g/mol). Congo red merupakan senyawa kimia yang larut air, menghasilkan larutan koloid berwarna merah, namun kelarutannya lebih baik dalam pelarut organik seperti ethanol. Congo red dapat digunakan sebagai indikator pH. Perubahan warna dari biru ke merah sesuai dengan rentangan pH 3.0–5.2. Congo red memiliki suatu kelemahan terhadap agregasi dalam larutan air dan organik (PubChem, 2017). Warna cat ini merah gelap atau coklat kemerahan yang menjadi biru dalam suasana kondisi asam. Kondisi pH media CRA awal cukup tinggi sehingga media berwarna merah, hingga saat ditanami oleh bakteri dan melalui masa inkubasi, maka metabolit bakteri yang berupa polisakarida dan sukrosa yang ada di media merubah pH menjadi lebih asam dan membuat koloni yang tumbuh berwarna gelap.



Gambar 6.1 Indikator pH Cat Congo red

Kekurangan dari metode ini adalah terdapatnya variasi warna koloni hitam dan merah yang dibentuk oleh bakteri yang ditanam, sehingga menyulitkan evaluasi (Mariana et al., 2009). Dengan meningkatnya alkalinitas lingkungan hidup, *E. faecalis* juga menunjukkan kurang kemampuan untuk membentuk biofilm. Demikian pula, komposisi kimia dan persentase masing-masing komponen biofilm *E. faecalis* yang dibentuk dalam media kultur menunjukkan perubahan di semua kelompok. ASP dianggap sebagai faktor yang sangat terkait dengan pembentukan biofilm dan patogenisitas (Weixu et al., 2017).

Ada berbagai skala warna untuk menilai koloni pada CRA. Para peneliti ada yang membaginya menjadi dua, empat, lima maupun enam skala warna untuk koloni yang terbentuk di CRA (Arciola, 2002, Kaiser, 2013). Spektrum warna tersebut berkisar dari hitam pekat sebagai biofilm producer hingga merah sebagai nonbiofilm producer.

Metode Congo Red Agar memiliki beberapa keuntungan dan kerugian dalam mendeteksi pembentukan biofilm *Enterococcus faecalis*.

Keuntungan Metode Congo Red Agar adalah:

- a. Mudah pelaksanaannya,
- b. Hanya satu kali inkubasi,
- c. Media Congo Red Agar dalam sekali pembuatan dapat diproduksi dalam jumlah banyak sehingga tidak perlu membuat media setiap mengisolasi bakteri.
- d. Indikator Congo Red diperlukan hanya sedikit yaitu 0,8 mg/L, tidak perlu membutuhkan sejumlah indikator yang banyak untuk satu kali pembuatan

- e. Warna koloni hitam jelas terlihat
- f. Terhadap koloni hitam tersebut dapat dilakukan AST

Kerugian Metode Congo Red Agar adalah:

- a. Indikator Congo Red tidak dijual di Indonesia, sehingga membutuhkan waktu lama dan biaya yang mahal.
- b. Membutuhkan biakan murni

Evaluasi fenotipik pada metode Congo red Agar menunjukkan pembentukan warna hitam yang berhubungan dengan keberadaan sukrosa pada media CRA. Konsentrasi sukrosa yang terkandung dalam medium mempengaruhi produksi dari EPS. Bila konsentrasi sukrosa rendah, maka difusi pigmen hitam dari koloni juga berkurang. Sukrosa pada media agar pada metode Congo Red Agar berperan sebagai sumber karbon.

Beberapa peneliti, menyatakan bahwa metode CRA merupakan alat deteksi awal pembentukan biofilm yang sangat sederhana, murah dan mudah dikerjakan (Hassan et al., 2011; Pantanella et al., 2013); Arciola et al., (2006) serta Jain dan Agarwal (2009) merekomendasikan uji CRA sebagai metode yang reliable untuk menentukan pembentukan biofilm.

Sebagai pembanding pada penelitian ini menggunakan Metode Modified Congo Red Agar. Menurut Kaiser et al. (2012) metode Modified Congo Red Agar merupakan modifikasi cara inokulasi *Enterococcus faecalis* agar interpretasi gambaran koloni dan pigmentasi lebih mudah dievaluasi. Perbedaan metode Modified Congo Red Agar (MCRA) dibandingkan dengan Metode Congo Red Agar, yaitu dengan mengganti metode streaking menjadi spot inoculation. Cara

ini dianggap lebih menghemat media agar yang digunakan untuk identifikasi biofilm. Metode MCRA ini cepat, mudah, sensitif, reproducible dan koloni yang tumbuh pada medium ini masih bisa digunakan untuk analisis lebih lanjut (Freeman et al., 1989; Arciola et al., 2002; Kaiser et al., 2012). Awal studi diusulkan metode MCRA ini merupakan suatu alternatif metode MTP (Micro Titre Plate) untuk tujuan screening pembentukan biofilm (Knobloch, 2002) karena mudah untuk dilakukan, tidak menyita waktu, sensitif dan spesifik, namun MCRA ini tidak sepenuhnya mampu menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah pembentuk biofilm, karena mekanisme pembentukan biofilm dapat melalui beberapa jalur.

Metode ini juga memiliki perbedaan dibandingkan dengan metode CRA yaitu pada metode MCRA diberi penambahan glukosa sebesar 10g/l. Berdasarkan penelitian Rossi et al (2016) menunjukkan peningkatan produksi LPS pada media yang ditambahkan glukosa dengan kadar 0,08%, 0,15% dan 0,2%. Penelitian Mewo (2017) menunjukkan adanya korelasi positif antara peningkatan konsentrasi glukosa pada lingkungan sekitar bakteri dan peningkatan pembentukan biofilm.

Metode MCRA ini memiliki kekurangan karena hanya mendeteksi polisakarida biofilm yang terikat dengan cat Congo red yang ada di media, dimana jika matriks biofilm mengandung komposisi utama berupa protein atau DNA ekstraseluler, MCRA ini kemungkinan tidak mampu untuk mendeteksi pembentukan biofilm tersebut.

Metode Microtiter Plate Assay (MPA) merupakan uji kuantitatif yang diperkenalkan oleh Christensen dan kawan-kawan merupakan gold standard untuk

mendeteksi biofilm (Christensen et al., 1985). Metode ini menggunakan Optical Density (OD) dari bakteri yang melekat dan yang terwarnai oleh crystal violet dan dibaca menggunakan ELISA autoreader. Hasil pemeriksaan berupa perubahan warna yang menandakan produksi biofilm atau tidak memproduksi biofilm. Metode Microtiter Plate Assay adalah metode kuantitatif dan dapat digunakan untuk mendeteksi bakteri yang memproduksi biofilm di laboratorium diagnostik (Hassan et al., 2011).

Pada hasil penelitian didapatkan persamaan hasil antara metode CRA dan MCRA dikarenakan CRA dan MCRA menggunakan sukrosa dan glukosa yang merupakan polisakarida untuk membentuk biofilm sedangkan pada MPA tidak menggunakan glukosa sehingga hasil biofilm negatif (Uphadayaya., 2010)

Ran et All mengatakan bahwa *Enterococcus faecalis* mengalami peningkatan dalam membentuk biofilm jika diberikan glukosa. kelaparan adalah salah satu faktor terpenting yang mempengaruhi pembentukan biofilm *E. faecalis*. Ketika alkalinitas lebih tinggi *E. faecalis* menunjukkan kemampuan yang berkurang untuk membentuk biofilm (wei xu et al., 2017). Beberapa peneliti juga telah menunjukkan bahwa di antara *E. faecalis* suplementasi glukosa meningkatkan pembentukan biofilm (Pillai et al., 2004).

Tidak ada perbedaan antara CRA dan MCRA dalam hal tingkat deteksi biofilm kecuali dalam kasus biofilm stafilokokus di mana MCRA adalah metode yang lebih baik daripada CRA untuk hal yang sama. (Panda, et al 2016)

Penelitian ini menghasilkan beberapa temuan, yaitu:

1. Urin merupakan specimen isolat *Enterococcus faecalis* yang paling banyak ditemukan dibandingkan specimen lain.
2. Sensitivitas dan spesifisitas metode Congo Red Agar maupun Modified Congo red Agar sama terhadap Microtiter Plate Assay sehingga Metode Congo red Agar maupun Modified Congo red Agar dapat dijadikan sebagai alternative skrining awal untuk mendeteksi bentukan biofilm *Enterococcus faecalis* tetapi tidak dapat dijadikan sebagai pemeriksaan mikrobiologis yang terstandarisasi sebagai penentu biofilm.
3. Metode Microtiter Plate Assay ini dapat digunakan sebagai alat deteksi produksi biofilm pada isolat klinik di Instalasi Mikrobiologi RSUD. Dr. Soetomo Surabaya, mengingat tingginya penggunaan device di RSUD. Dr. Soetomo Surabaya sebagai rumah sakit rujukan utama Indonesia Timur