

## IDENTIFIKASI DAN PERAN BIOFILM DALAM PROSES PENYEMBUHAN LUKA KAKI DIABETES: TINJAUAN LITERATUR

*(Identification and Role of Biofilms in the Healing Process of Diabetic Foot Ulcer : A Literature Review)*

Sintawati Majid\*, Saldy Yusuf\*\*, Yuliana Syam\*\*\*

\* \*\* \*\*\* Magister Keperawatan Universitas Hasanuddin Makassar

\*ETN Centre Indonesia Makassar

\*\*Griya Afiat Makassar

email nerssinta99@gmail.com

### ABSTRAK

**Pendahuluan** : Salah satu komplikasi diabetes melitus (DM) yang paling banyak dilaporkan adalah luka kaki diabetes (LKD). LKD sangat rentan terpajan mikroorganisme dan berkembang menjadi *diabetic foot infection* (DFI). DFI dikaitkan dengan kehadiran biofilm pada luka. Berbagai jenis mikroorganisme bertanggung jawab sebagai pembentuk biofilm sehingga menghambat penyembuhan luka. Tujuan dari *literatur review* ini adalah untuk mengetahui metode identifikasi dan peran biofilm dalam menghambat proses penyembuhan luka. **Metode** : The method used is an electronic database of journals published through PubMed, Science Direct, Wiley and secondary search. **Hasil** : Review dari sembilan artikel yang telah direkrut melaporkan mayoritas mikroorganisme yang ditemukan pada LKD adalah produsen biofilm. Biofilm dapat dideteksi melalui pemeriksaan mikroskopis, metode lempeng mikro, metotoksik konvensional dan *wound blotting* non invasif. Adanya eksudate, kontrol glikemik yang buruk (HbA1c >8%), derajat luka, ukuran luka ( $\leq 4$  cm), durasi luka (>3 bulan) dan lama menderita diabetes (10-19 tahun) berkaitan dengan keberadaan biofilm. Selain itu faktor risiko signifikan yang terkait dengan biofilm : paparan antibiotik, rekuren, riwayat amputasi, *Multidrug-resistant* (MDR) dan *Extensive Drug resistant* (XDR). Biofilm berperan dalam terhambatnya proses penyembuhan luka dan dapat menyebabkan inflamasi kronik. **Diskusi** : Golden standar metode identifikasi biofilm melalui pemeriksaan mikroskopis dengan biopsi jaringan luka. Biofilm berperan dalam peradangan kronik.

**Kata kunci** : Luka kaki diabetes, biofilm, proses penyembuhan luka

### ABSTRACT

**Introduction** : One of the most reported complications of diabetes mellitus (DM) is diabetic foot ulcer (DFU). DFU is very vulnerable to be exposed to microorganisms and develops into diabetic foot infection (DFI). DFI is associated with the presence of biofilms in wounds. Various types of microorganisms are responsible for forming biofilms which inhibit wound healing. The purpose of this review is to find out the identification method and the role of biofilms in inhibiting the wound healing process. **Method** : The method used is an electronic database from a journal published through PubMed, Science Direct, and Wiley. **Result** : A review of nine recruited articles reported that the majority of microorganisms found in DFS were biofilm producers. Biofilms could be detected through microscopic examination, microplate, conventional metotoxic methods and non-invasive wound blotting. Exudates, poor glycemic control (HbA1c > 8%), degree of injury, wound size ( $\leq 4$  cm), wound duration (> 3 months) and duration of diabetes (10-19 years) were related to the presence of biofilms. In addition, significant risk factors associated with biofilms were antibiotic exposure, recurrence, history of amputation, multidrug-resistant

(MDR) and Extensive Drug resistant (XDR). Biofilms play a role in inhibiting wound healing and can cause chronic inflammation. **Discussion** : Golden standard method of biofilm identification is through microscopic examination with wound tissue biopsy. Biofilms play a role in chronic inflammation.

**Keywords:** Diabetic foot ulcer, biofilms, wound healing processes

## PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah penderita Diabetes Melitus (DM) berbanding lurus dengan komplikasi yang disebabkan oleh penyakit ini. Komplikasi DM menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas paling signifikan di dunia dengan menyumbang 5.0% kematian pada orang dewasa, dan kejadian luka kaki diabetes (LKD) mencapai 25% (IDF, 2017a). Risiko LKD pada pasien DM semasa hidupnya adalah 25% (Holt *et al.*, 2010). Penelitian sebelumnya di rumah sakit daerah kawasan Indonesia timur ditemukan dari 249 paartisipan yang direkrut lebih dari setengahnya memiliki faktor risiko LKD dan prevalensi kejadian LKD sebesar 12% (Yusuf *et al.*, 2016). LKD pada umumnya sulit untuk sembuh sehingga membutuhkan perawatan yang tepat.

Salah satu penyulit penyembuhan yang sering ditemukan dalam perawatan pasien dengan LKD adalah infeksi. Satu dari dua pasien dengan LKD berkembang menjadi *Diabetic foot infection* (DFI) (Hurlow *et al.*, 2018). Prognosis penderita LKD yang mengalami infeksi cukup buruk, seperti amputasi dan kematian (Ndosi *et al.*, 2017). Dilaporkan setiap 30 detik amputasi tungkai bawah sebagai akibat dari diabetes (IDF, 2017b). LKD dilaporkan sangat rentan terpajan oleh mikroorganisme (Sinaga and Tarigan, 2012). Mikroorganisme yang ditemukan pada LKD merupakan produsen biofilm yang dapat menghambat proses penyembuhan.

Identifikasi jenis mikroorganisme pembentuk biofilm dan perannya dalam menghambat proses fisiologi penyembuhan menjadi sesuatu yang penting untuk dibahas. Metode identifikasi biofilm dapat dilakukan secara

konvensional dan melalui scanning electron mikroskopi (SEM) (Pugazhendhi and Dorairaj, 2018). Visualisasi menggunakan mikroskopi dapat Bakteri patogen yang ditemukan pada LKD bertanggung jawab sebagai produsen biofilm (Johani *et al.*, 2017; Malik, Mohammad, & Ahmad, 2013; Mottola *et al.*, 2016). Kehadiran biofilm pada luka sangat erat kaitannya dengan fisiologis terhambatnya penyembuhan luka dimana biofilm mampu bertahan dari berbagai jenis antibiotik dan mampu bertahan dari mekanisme pertahanan tubuh penderita (Bianchi *et al.*, 2016; Malone and Swanson, 2017). Keberadaan biofilm pada LKD masih memerlukan penanganan yang serius oleh karena itu tujuan dari tinjauan literatur ini adalah untuk mengetahui metode identifikasi keberadaan biofilm serta mikroorganisme yang berperan dalam pembentukan biofilm dan peranannya dalam menghambat proses penyembuhan LKD. Selain itu, tinjauan literatur ini membantu dalam mensintesis penelitian-penelitian secara empiris, sehingga dapat diperoleh : (1) mikroorganisme yang bertanggung jawab dalam pembentukan biofilm, (2) faktor risiko yang berkaitan dengan pembentukan biofilm, (3) metode / cara mengidentifikasi keberadaan biofilm pada luka, (4) peran biofilm dalam proses penyembuhan luka.

## BAHAN DAN METODE

Metode yang digunakan pada tinjauan literatur ini yaitu panduan PRISMA (Moher *et al.*, 2009). Adapun proses yang dilakukan adalah peneliti mencari beberapa artikel dari jurnal penelitian yang dipublikasi melalui database elektronik antara lain : PubMed, Science

Direct dan Wiley, dan pencarian sekunder dengan menggunakan kata kunci *Diabetic foot ulcer* OR *diabetic wound* OR *diabetes foot ulcer* OR *diabetes wound* OR *diabetes ulcer* AND *biofilms* pada proses pencarian masalah PICOT ('This form is adapted from: Miller, S.A. (2001). PICO worksheet and search strategy. US National Center for Dental Hygiene Research.', 2016), strategi penyaringan artikel telah terprinci pada flow diagram PRISMA (Gambar.1).

Artikel yang dimasukkan adalah artikel yang berkaitan dengan tema penelitian dengan kriteria full text, dipublikasikan maksimal 5 tahun terakhir, original **artikel** dengan sampel manusia. Judul dan abstrak disaring oleh peneliti, penilaian kelayakan artikel dinilai menggunakan format CASP sesuai jenis artikel (CASP, 2018). Selanjutnya data diekstraksi oleh peneliti dan hasil temuan dirangkum dalam model tabel sintesis grid (Tabel1).

## HASIL

Kami mengidentifikasi 66 artikel dari semua database (PubMed, wiley, Science Direct dan pencarian sekunder) dengan strategi pencarian menggunakan kata kunci PICOT. Selanjutnya dilakukan skrining artikel sesuai dengan tinjauan literatur yang diinginkan, skrining  $\geq 5$  tahun sehingga artikel yang tersaring ( $n = 40$ ), tidak ada full text dan tidak sesuai tema dikeluarkan ( $n = 17$ ), selanjutnya artikel studi kasus dikeluarkan ( $n = 2$ ), dengan alasan artikel review dikeluarkan sebanyak ( $n = 6$ ), artikel manuskrip accepted ( $n = 4$ ), artikel dengan sampel tidak spesifik LKD dan tidak sesuai tujuan penelitian ( $n = 2$ ) sehingga total yang diinklusi adalah 9 artikel (Gambar 1).

### 1. Mikroorganisme pembentuk biofilm

Bakteri gram negatif dan bakteri gram positif ditemukan pada LKD. Dari 9 artikel yang dianalisis 3 artikel melaporkan jenis bakteri yang terdapat

pada LKD antara lain : staphylococcus spp ( S. Aureus, S. epidermidis ). Corynebacterium spp ( C. Straitus, C. Simulans) streptococcus agalactiae, anaerococcus spp (peptostreptococcus anaerobius), peptoniphilus spp ( P. Melaninogenica, P. Nanceiensis), enterococcus, acinetobacter, mikrococcus luteus, streptococcus pneumoniae, escherichiacoli, klebsiella pneumoniae, salmonella paratyphi, vibrioparae hemolyticus, shigella sonnei, pleisomonas shingelloides, dan proteus vulgaris (Mottola *et al.*, 2016; Johani *et al.*, 2017; Pugazhendhi and Dorairaj, 2018). Semua jenis bakteri yang ditemukan pada LKD dilaporkan sebagai penghasil biofilm. 6 artikel melaporkan jenis bakteri penghasil biofilm. Penghasil biofilm paling dominan adalah Pseudomonas, kemudian E.coli, Staphylococcus, Corynebacterium, Acinetobacter, dan Enterococcus. (Mottola *et al.*, 2016). Pembentukan biofilm secara signifikan lebih tinggi pada bakteri gram negatif (GNB) dibandingkan dengan bakteri gram positif GPB ( $P = 0,01$ )(Vatan *et al.*, 2018). Pembentukan biofilm paling sering terdeteksi pada tiga jenis bakteri ini antaralain A. baumannii (62%), P. aeruginosa (52%) dan Klebsiella spp. (40%)(Vatan *et al.*, 2018), berdasarkan tingkat isolat pseudomonas merupakan produsen biofilm tertinggi kemudian Corynebacterium, Acinetobacter, Staphylococcus dan Enterococcus (Mottola *et al.*, 2016). Percobaan pada 3 waktu yakni 24 jam, 48 jam, dan 72 jam menemukan Pseudomonas dan Corynebacterium penghasil biofilm sedang dalam 24, 48, dan 72 jam sedangkan Acinetobacter, Staphylococcus dan Enterococcus penghasil biofilm yang lemah dalam 24,48 dan 72 jam. Mayoritas bakteri yang ditemukan pada LKD merupakan pembentuk biofilm.

### 2. Faktor risiko yang berkaitan dengan pembentukan biofilm.

Status kondisi luka juga dapat menggambarkan secara klinis adanya biofilm pada luka. Hal – hal yang dikaitkan dengan adanya biofilm pada luka diantaranya : adanya eksudate, tanda pyocianin gelatin, gelatin pada permukaan luka dan reformasi gelatin (Johani *et al.*, 2017), kontrol glikemik yang buruk (HbA1c >8%), derajat luka, ukuran luka ( $\leq 4$  cm), durasi luka (>3 bulan) dan lama menderita diabetes (10-19 tahun) (Pugazhendhi and Dorairaj, 2018). Selain itu faktor risiko signifikan yang terkait dengan biofilm : paparan antibiotik, rekuren dalam 6 bulan, riwayat amputasi, riwayat rawat inap 3 bulan dengan rekuren DFI, *Multidrug-resistant* (MDR) dan *Extensive Drug resistant* (XDR) (Vatan *et al.*, 2018). Tanda – tanda klinis diatas dapat di jadikan indikator sebuah luka dicurigai terdapat biofilm untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.

### 3. Metode / cara mendeteksi biofilm pada luka.

Hingga saat ini golden standar dalam mendeteksi biofilm adalah pemeriksaan mikroskopis. Hal ini terlihat dari metode deteksi biofilm yang digunakan pada beberapa penelitian antara lain: Pemeriksaan biofilm dilakukan dengan metode biopsi jaringan tepi luka yang divisualisasikan menggunakan Fluorescent in situ hybridisation (FISH), peptide nucleic acid-based fluorescence in situ hybridisation (PNA-FISH) dan Scanning electron microscopy (SEM) (Snow *et al.*, 2016; Johani *et al.*, 2017; Malone *et al.*, 2017). Multispesies penghasil biofilm dapat dideteksi menggunakan Multiple spesies penghasil biofilm dideteksi menggunakan multiplex fluorescent in situ hybridization (MFISH) dan divisualisasikan menggunakan fluorescent microscopy in a Leica DMRA2 fluorescence microscope (Mottola *et al.*, 2016). Selain itu Sebuah penelitian membandingkan beberapa metode konvensional yang berbeda – beda

dengan SEM (Pugazhendhi and Dorairaj, 2018). Metode lempeng mikro modifikasi juga di perkenalkan sebagai metode deteksi biofilm (Vatan *et al.*, 2018). Namun SEM masih dominan digunakan pada pemeriksaan biofilm.

Selain metode visualisasi mikroskopis , metode lain untuk menilai penanda adanya biofilm pada luka juga dapat di deteksi. Skuensing DNA digunakan untuk menilai beban mikroba pembentuk biofilm pada luka (Johani *et al.*, 2017; Malone *et al.*, 2017). Pengurangan MMP -9 dan MMP-2 menunjukkan pengurangan beban mikroba pembentuk biofilm, MMP dapat dideteksi menggunakan Zymografi (Malone *et al.*, 2017). Penelitian lain oleh Haryanto, menggunakan metode *wound blotting* non invasif dalam mendeteksi biofilm pada luka kaki diabetes setelah intervensi pemberian madu dan timun laut (Haryanto , Ogai *et al.*, 2017) Metode diatas dapat menjadi alternatif pilihan dalam mendeteksi biofilm pada luka.

### 4. Peran biofilm dalam proses penyembuhan luka.

Dari 9 artikel yang di analisis hanya 1 artikel yang membahas peran biofilm yakni penelitian oleh snow mengidentifikasi penyebab peredaran kronis pada DFU post amputasi, hasilnya temuan adanya biofilm dalam arteri menjadi penyebab inflamasi kronis yang mengarah ke aterosklerosis (Snow *et al.*, 2016). Peran biofilm dalam mekanisme fisiologi penyembuhan luka masih perlu diteliti.

## PEMBAHASAN

Hasil analisis 6 artikel melaporkan mayoritas jenis bakteri yang ditemukan pada LKD sebagai pembentuk biofilm. Dari 255 bakteri yang diisolasi, 179 (70%) adalah penghasil biofilm (Malik, Mohammad and Ahmad, 2013). Pembentukan biofilm secara signifikan lebih tinggi pada GNB dibandingkan dengan GPB (P = 0,01). Kemampuan bakteri untuk menghasilkan biofilm

dikategorikan dalam kelompok, tinggi, sedang dan lemah. Dari 328 jenis mikroorganisme yang diperoleh dari pasien DM, 94 jenis bakteri memiliki tingkat kemampuan yang tinggi dalam membentuk biofilm dan umumnya resisten terhadap antimikroba (Semedo-Lemsaddek *et al.*, 2016). Dari 179 (70%) bakteri penghasil biofilm 119/167 (71.2%) GNB dan 60/88 (68,1%) GPB (Malik, Mohammad and Ahmad, 2013). *Pseudomonas* merupakan salah satu jenis GNB. 3 artikel menemukan bakteri *pseudomonas* merupakan penghasil biofilm paling tinggi (dominan) diantara jenis yang lainnya. *Pseudomonas Aureus* sering dikaitkan dengan pembentukan biofilm (Bjarnsholt, 2013). Dengan mengetahui jenis bakteri yang ada pada LKD memungkinkan untuk memprediksi tingkat pembentukan biofilm pada luka.

Observasi kehadiran biofilm juga dapat dilakukan secara visual melalui tanda klinis pada luka, salah satunya adalah adanya eksudat. Penurunan biofilm pada semua kasus diidentifikasi melalui metode visual tanda infeksi klinis (Metcalf, Parsons and Bowler, 2016). Peningkatan jaringan nekrotik dan eksudat meningkatkan kecurigaan akan keberadaan biofilm (Dryden *et al.*, 2016). Biofilm dapat terbentuk pada dasar luka sekaligus menempel pada eksudat luka dan dapat menyebar ke dalam struktur jaringan yang lebih dalam (Malone and Swanson, 2017). Faktor lain yang menjadi faktor risiko yang terkait dengan biofilm seperti kontrol glikemik yang buruk ( $HbA1c > 8\%$ ), derajat luka, ukuran luka ( $\leq 4$  cm), durasi luka ( $> 3$  bulan), lama menderita diabetes (10-19 tahun), paparan antibiotik, rekuren dalam 6 bulan, riwayat amputasi, riwayat rawat inap 3 bulan dengan rekuren DFI dan riwayat *Multidrug-resistant* (MDR) perlu diidentifikasi lebih lanjut.

Meskipun observasi visual tanda infeksi dapat di jadikan salah satu cara identifikasi awal kecurigaan adanya biofilm pada luka namun hingga saat ini

golden standar metode identifikasi biofilm masih melalui pemeriksaan mikroskopis. Semua sampel terdapat biofilm yang di lihat melalui Fluorescent in situ hybridisation (FISH), peptide nucleic acid-based fluorescence in situ hybridisation (PNA-FISH) dan Scanning electron microscopy (SEM) (Johani *et al.*, 2017). Berbagai jenis mikroskopis telah diperkenalkan dalam mendeteksi biofilm antaralain : Mikroskop laser pemindaian confocal, mikroskop elektron transmisi, mikroskop elektron pemindaian, dan mikroskop fluoresensi (Gompelman, Van Asten and Peters, 2016). Pemeriksaan mikroskopis merupakan metode yang umum digunakan untuk mendeteksi biofilm pada luka (Metcalf & Bowler, 2013). Mikroskopis dikenal dapat mengvisualisasikan struktur bakteri pembentuk biofilm pada luka.

Luka dengan durasi  $> 3$  minggu atau mengalami perlambatan dalam proses penyembuhan perlu dicurigai adanya biofilm. Kehadiran biofilm pada luka secara signifikan mengganggu penyembuhan luka (Klein *et al.*, 2018). Biofilm diketahui mampu beradaptasi terhadap berbagai bentuk pengobatan dengan cara berlindung dari mekanisme pertahanan tubuh penderita (Malone and Swanson, 2017). Biofilm memegang peranan penting dalam patofisiologi terhambatnya penyembuhan luka (Bianchi *et al.*, 2016). Temuan snow bahwa adanya biofilm dalam arteri menjadi penyebab inflamasi kronis (Snow *et al.*, 2016). Hal ini memungkinkan jika dikaitkan dengan biofilm diketahui dapat menghasilkan infeksi yang unik (infeksi kronis) dengan karakteristik toleransi yang signifikan terhadap antibiotik dan biosida dan juga dilindungi dari kekebalan host (IWWI, 2016). Berbagai kondisi serius yang ditimbulkan akibat biofilm menjadi alasan untuk pemilihan intervensi yang tepat pada luka dengan biofilm.



## SIMPULAN

Mayoritas bakteri yang ditemukan pada LKD merupakan penghasil biofilm yang baik. Metode visualisasi melalui mikroskopis menjadi golden standar identifikasi biofilm pada luka. Selain itu observasi visual tanda inflamasi klinis dan faktor risiko yang berkaitan dengan biofilm dapat dijadikan data awal kecurigaan akan keberadaan biofilm pada luka yang dapat menghambat proses penyembuhan.

## SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut terkait manajemen biofilm yang aman dan efektif.

## KEPUSTAKAAN

- Bianchi, T. *et al.* (2016) 'Recommendations for the management of biofilm: a consensus document', *Journal of Wound Care*, 25(6), pp. 305–317. doi: 10.12968/jowc.2016.25.6.305.
- Bjarnsholt, T. (2013) 'The Role of Bacterial Biofilms in Chronic Infections', *Acta pathologica, mikrobiologica scandinavica*, 121, pp. 1–51. doi: 10.1111/apm.1209.
- CASP (2018) *Casp Checklists - Critical Appraisal Skills Programme*, *Casp*. Available at: <https://casp-uk.net/casp-tools-checklists/> (Accessed: 27 June 2019).
- Dryden, M. *et al.* (2016) 'A multi-centre clinical evaluation of reactive oxygen topical wound gel in 114 wounds', *Journal of Wound Care*, 25(3), pp. 140–146. doi: 10.12968/jowc.2016.25.3.140.
- Gompelman, M., Van Asten, S. A. V. and Peters, E. J. G. (2016) 'Update on the role of infection and biofilms in wound healing: Pathophysiology and treatment', *Plastic and Reconstructive Surgery*, 138(3), pp. 61S–70S. doi: 10.1097/PRS.0000000000002679.
- Haryanto, Ogai, K. *et al.* (2017) 'A prospective observational study using sea cucumber and honey as topical therapy for diabetic foot ulcers in Indonesia', *Journal of Wellness and Health Care*, 41(2), pp. 41–56.
- Holt, R. I. G. *et al.* (2010) *Handbook of Diabetes: Fourth Edition, Textbook of Diabetes: Fourth Edition*. doi: 10.1002/9781444324808.
- Hurlow, J. J. *et al.* (2018) 'Diabetic foot infection: A critical complication', *International Wound Journal*, 28 May. doi: 10.1111/iwj.12932.
- IDF (2017a) *IDF Clinical Practice Recommendations on the Diabetic Foot – 2017 guide for healthcare professionals*.
- IDF (2017b) *IDF Diabetes Atlas Eighth edition 2017*. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- IWWI (2016) 'wound infection in clinical practice: principles of best practice', *Narrative, Memory & Everyday Life*, pp. 1–7. doi: 10.1016/j.nedt.2010.12.011.
- Johani, K. *et al.* (2017) 'Microscopy visualisation confirms multi-species biofilms are ubiquitous in diabetic foot ulcers', *International Wound Journal*, 14(6), pp. 1160–1169. doi: 10.1111/iwj.12777.
- Klein, P. *et al.* (2018) 'A porcine model of skin wound infected with a polybacterial biofilm', *Biofouling*, 34(2), pp. 226–236. doi: 10.1080/08927014.2018.1425684.
- Malik, A., Mohammad, Z. and Ahmad, J. (2013) 'Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews The diabetic foot infections: Biofilms and antimicrobial resistance', *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 7(2), pp. 101–107. doi: 10.1016/j.dsx.2013.02.006.
- Malone, M. *et al.* (2017) 'Effect of cadexomer iodine on the microbial load and diversity of chronic non-healing diabetic foot ulcers complicated by biofilm in vivo', *Journal of Antimicrobial*

- Chemotherapy*, 72(7), pp. 2093–2101. doi: 10.1093/jac/dkx099.
- Malone, M. and Swanson, T. (2017) 'Biofilm-based wound care: The importance of debridement in biofilm treatment strategies', *British Journal of Community Nursing*, 22, pp. S20–S25. doi: 10.12968/bjcn.2017.22.Sup6.S20.
- Metcalf, D., Parsons, D. and Bowler, P. (2016) 'A next-generation antimicrobial wound dressing: a real-life clinical evaluation in the UK and Ireland', *Journal of Wound Care*, 25(3), pp. 132–138. doi: 10.12968/jowc.2016.25.3.132.
- Moher, D. *et al.* (2009) 'Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement (Chinese edition)', *Journal of Chinese Integrative Medicine*, pp. 889–896. doi: 10.3736/jcim20090918.
- Mottola, C. *et al.* (2016) 'Polymicrobial biofilms by diabetic foot clinical isolates', *Folia Microbiologica*, 61(1), pp. 35–43. doi: 10.1007/s12223-015-0401-3.
- Ndosi, M. *et al.* (2017) 'Research : Complications Prognosis of the infected diabetic foot ulcer: a 12-month prospective observational study', pp. 78–88. doi: 10.1111/dme.13537.
- Pugazhendhi, S. and Dorairaj, A. P. (2018) 'Appraisal of Biofilm Formation in Diabetic Foot Infections by Comparing Phenotypic Methods With the Ultrastructural Analysis', *Journal of Foot and Ankle Surgery*. Elsevier Inc., 57(2), pp. 309–315. doi: 10.1053/j.jfas.2017.10.010.
- Semedo-Lemsaddek, T. *et al.* (2016) 'Characterization of multidrug-resistant diabetic foot ulcer enterococci', *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(2), pp. 114–116. doi: 10.1016/j.eimc.2015.01.007.
- Sinaga, M. and Tarigan, R. (2012) 'Penggunaan bahan pada perawatan luka'.
- Snow, D. E. *et al.* (2016) 'The presence of biofilm structures in atherosclerotic plaques of arteries from legs amputated as a complication of diabetic foot ulcers', *Journal of Wound Care*, 25(Sup2), pp. S16–S22. doi: 10.12968/jowc.2016.25.sup2.s16.
- 'This form is adapted from: Miller, S.A. (2001). PICO worksheet and search strategy. US National Center for Dental Hygiene Research.' (2016), (2001), p. 2001.
- Vatan, A. *et al.* (2018) 'Association between biofilm and multi/extensive drug resistance in diabetic foot infection', *International Journal of Clinical Practice*, 72(3), pp. 1–7. doi: 10.1111/ijcp.13060.
- Yusuf, S. *et al.* (2016) 'Prevalence and Risk Factor of Diabetic Foot Ulcers in a Regional Hospital, Eastern Indonesia', *Open Journal of Nursing*, 06(01), pp. 1–10. doi: 10.4236/ojn.2016.61001.

**Tabel 1 : sintesis Grid**

Author , nama jurnal ( Tahun)	Judul	Tujuan	Metode identifikasi biofilm	Sampel	Hasil
Johani et al. <i>International Wound Journal</i> (2017)	Microscopy visualisation confirms multi-species biofilms are ubiquitous in diabetic foot ulcers	Tujuan : untuk memvisualisasikan dan mengkonfirmasi keberadaan biofilm dalam diabetic foot ulcer (DFU)	Prospective study, pemeriksaan biofilm dilakukan dengan metode biopsi jaringan tepi luka menggunakan : 1. Fluorescent in situ hybridisation (FISH) dan peptide nucleic acid-based fluorescence in situ hybridisation (PNA-FISH). 2. Scanning electron microscopy (SEM) 3. Skuensing DNA untuk mengidentifikasi mikroorganisme pada luka	65 pasien usia >18tahun selama 6 bulan.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Semua sampel terdapat biofilm yang dilihat melalui FISH/PNA-FISH dan SEM</li> <li>20 sampel di temukan multispesies bakteri, 26 sampel ditemukan mono dan multiple spesies bakteri.</li> <li>Bakteri yang ditemukan berdasarkan tingkatan terbanyak : <i>Staphylococcus</i> spp. (<i>S. aureus</i>, <i>S. epidermidis</i>), <i>Corynebacterium</i> spp. (<i>C. straitum</i>, <i>C. simulans</i>), <i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Anaerococcus</i> spp. (<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>), <i>Peptoniphilus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp. (<i>Pseu- domonas auerginosa</i>) dan <i>Prevotella</i> spp. (<i>P. melaninogenica</i>, <i>P. nanceiensis</i>).</li> </ul>
Mottola et al., <i>Folia Microbiologica</i> .(2016)	Polymicrobial biofilms by diabetic foot clinical isolates	Tujuan untuk mengevaluasi kemampuan isolat bakteri ( <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> dan <i>Acinetobacter</i> ) yang diisolasi dari DFU dalam menghasilkan biofilm.	1. Multiple spesies penghasil biofilm dideteksi menggunakan multiplex fluorescent in situ hybridization (MFISH). 2. Divisualisakin menggunakan fluorescent microscopy in a Leica DMRA2 fluo- rescence microscope.	95 isolat bakteri yang ditemukan dari 55 DFU	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Pseudomonas</i> dan <i>Corynebacterium</i> penghasil biofilm sedang dalam 24,48, dan 72 jam sedangkan <i>Acinetobacter</i>, <i>Staphylococcus</i> dan <i>Enterococcus</i> penghasil biofilm yang lemah dalam 24,48 dan 72 jam.</li> <li>Isolat <i>Pseudomonas</i> adalah produsen biofilm yang lebih tinggi, diikuti oleh <i>Corynebacterium</i>, <i>Acinetobacter</i>, <i>Staphylococcus</i> dan <i>Enterococcus</i>.</li> </ul>
Mottola, Matias, et al., <i>BMC Microbiology</i> (2016)	Susceptibility patterns of <i>Staphylococcus aureus</i> biofilms in diabetic foot infections Carla	Untuk menganalisis pola kerentanan antimikroba dari strain <i>S. aureus</i> penghasil biofilm yang diisolasi dari infeksi kaki diabetik	Tes kerentanan biofilm Versi modifikasi dari Calgary Biofilm Pin Lid Device (CBPD) digunakan untuk menentukan kerentanan antimikroba bakteri yang tertanam dalam biofilm 24-jam, untuk menentukan MBIC dan MBEC.	53 isolat klinis stafilokokus dari 49 sampel ulkus kaki diabetik (DFU),	<ul style="list-style-type: none"> <li>Semua isolat dianggap rentan terhadap vankomisin, linezolid, dan doksisisiklin, dengan nilai masing – masing MIC <math>\leq 1 \mu\text{g} / \text{ml}</math>, <math>\leq 4 \mu\text{g} / \text{ml}</math>, dan <math>\leq 0,5 \mu\text{g} / \text{ml}</math>.</li> </ul>
M. Malone et al.,	Effect of	Tujuan: mengetahui	1. Biofilm divisualisasikan dan	17 pasien	<ul style="list-style-type: none"> <li>Semua sampel terdapat biofilm</li> </ul>



<i>Journal of Antimicrobial Chemotherapy</i> (2017)	cadexomer iodine on the microbial load and diversity of chronic non-healing diabetic foot ulcers complicated by biofilm in vivo	Kinerja cadexomer iodine terhadap populasi mikroba dari luka kaki kronis sulit sembuh (DFUs) yang dipersulit oleh bio-film in vivo, menggunakan metode molekuler, mikroskop, dan zymograf.	dipastikan menggunakan mikroskop elektron (SEM), <i>fluoresensi in situ hibridisasi</i> (FISH) atau keduanya 2. struktur biokimia dinilai melalui SEM. 3. Zymografi digunakan untuk menentukan kadar protease luka.	dengan DFU penyembuhan terhambat.	<ul style="list-style-type: none"> <li>11 sampel menunjukkan pengurangan mikroba, 1 log10 sementara 6 sampel diantaranya tidak menunjukkan pengurangan namun tidak juga mengalami peningkatan jumlah mikroba.</li> <li>8 sampel mengalami pengurangan MMP-9 dan MMP-2 dimana pengurangan MMP menunjukan pengurangan beban mikroba.</li> </ul>
Pugazhendhi & Dorairaj. <i>Journal of Foot and Ankle Surgery</i> (2018)	Appraisal of Biofilm Formation in Diabetic Foot Infections by Comparing Phenotypic Methods With the Ultrastructural Analysis	untuk menilai biofilm sebagai faktor virulensi utama pada pasien dengan infeksi kaki diabetes menggunakan metode konvensional metotoksik yang berbeda-beda dibandingkan dengan analisis infrastruktur yang dapat dilakukan melalui mikroskop elektrik (SEM).	biofilm dinilai menggunakan metode metotoksik konvensional dibandingkan dengan metode analisis struktur bakteri menggunakan mikroskop elektron (SEM).	160 pasien	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dari 160 sampel 138 memiliki hasil kultur positif</li> <li>Bakteri gram positif yang diidentifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> (35%) adalah organisme yang dominan, diikuti oleh <i>S. saprophyticus</i>, <i>S. epidermidis</i>, <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Micrococcus luteus</i>, dan <i>Streptococcus pneumoniae</i>. Sedangkan bakteri gram negatif antara lain, <i>P. aeruginosa</i> (25%) kemudian <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Salmonella paratyphi</i>, <i>Vibrio parahaemolyticus</i>, <i>Shigella sonnei</i>, <i>Plesiomonas shigelloides</i>, dan <i>Proteus vulgaris</i>.</li> <li>Dari 138 pasien dengan kultur positif, 94 yang menunjukkan adanya biofilm.</li> <li>Bakteri gram positif bertanggung jawab sebagai pembentuk biofilm</li> <li>kontrol glikemik yang buruk (hemoglobin A1c &gt; 8%) secara bermakna dikaitkan dengan produksi bio-film.</li> <li>Produksi biofilm juga berkaitan dengan derajat luka grade 1 skala wegner lebih banyak terdapat biofilm.</li> <li>Ukuran luka <math>\leq 4</math> lebih banyak ditemukan biofilm dibandingkan luka <math>\geq 4</math>.</li> <li>Durasi luka <math>\geq 3</math> bulan lebih banyak terdapat biofilm.</li> <li>Lama menderita diabetes 10-19 tahun</li> <li>Melalui pemeriksaan visual di pada tabung di dapatkan 76 isolat bakteri sebagai penghasil biofilm yang kuat, 46 sedang, 29, rendah dan 27</li> </ul>

					<p>isolat tidak menghasilkan biofilm.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Melalui pemeriksaan congo red agar (CRA) didapatkan 127 tidak menghasilkan biofilm, hanya 51 yang positif biofilm.</li> <li>• Melalui media penutup ditemukan 119 negatif biofilm dan 59 positif biofilm.</li> <li>• Melalui SEM di pembentukan biofilm sedang pada 24 jam dan meningkat setelah 48 jam.</li> </ul>
Snow et al., <i>Journal of Wound Care</i> (2016)	The presence of biofilm structures in atherosclerotic plaques of arteries from legs amputated as a complication of diabetic foot ulcers	untuk mengklarifikasi penyebab peradangan kronis dalam plak aterosklerotik, dan menentukan apakah ada bakteri dan / atau virus yang terlibat dalam jalur inflamasi	mikroskop fluoresensi dan hibridisasi in-situ fluoresensi (FISH) digunakan untuk mengidentifikasi komponen biofilm dalam arteri aterosklerotik.	10 pasienDFU post amputasi.	Adanya biofilm dalam arteri menjadi penyebab inflamasi kronis yang mengarah ke aterosklerosis terbentuknya plak.
Suryaletha, John, Radhakrishnan, George, & Thomas. <i>International Wound Journal</i> (2018)	Metataxonomic approach to decipher the polymicrobial burden in diabetic foot ulcer and its biofilm mode of infection	bertujuan untuk menyoroti pentingnya pendekatan kultur dan metagenomik untuk menyediakan cakupan lengkap keanekaragaman bakteri luka diabetes kronis dan sifat biofilm luka, serta pilihan diagnostik yang akan digunakan dalam pengelolaan infeksi terkait biofilm	Kultur swab dan sekuensing gen 16S rRNA. Metagenomic sequencing Hibridisasi in situ fluoresensi Untuk mempelajari distribusi biofilm luka Scanning electron microscopy (SEM). mikroskopi pemindaian laser confocal (CLSM) Pewarnaan biofilm dari isolat pembentuk biofilm Gram-positif dan Gram-negatif dengan Syto9 (Invitrogen).	100 partisipan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identifikasi bakteri terbanyak pseudomonas, proteus, enterococcus, staphylococcus, escherichia.</li> <li>• Semua isolat Proteus (100%) secara intens membentuk biofilm, sedangkan genus dominan lainnya, seperti Enterococcus sp. (92%), Pseudomonas sp. (79%), dan Staphylococcus sp. (72%), juga pembentuk biofilm yang baik.</li> <li>• Uji biofilm menunjukkan bahwa Escherichia coli menunjukkan kapasitas rendah untuk mengembangkan biofilm.</li> </ul>
Vatan et al., <i>International Journal of Clinical Practice</i> (2018)	Association between biofilm and multi/extensive drug resistance in diabetic foot infection	Tujuan: Kami bertujuan untuk menentukan faktor risiko yang signifikan untuk produksi biofilm dan untuk menyelidiki hubungan antara profil resistensi antimikroba dan pembentukan	Evaluasi mikrobiologi melalui biopsi jaringan. Deteksi biofilm menggunakan metode lempeng mikro modifikasi.	165 pasien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dari 339 mikroorganisme, 115 (34%) positif untuk pembentukan biofilm; 91 di antaranya adalah GNB (39% dari 229), dan 24 sisanya adalah bakteri Gram-positif (GPB) (21% dari 110). Pembentukan biofilm secara signifikan lebih tinggi di GNB dibandingkan dengan GPB (<math>P = 0,01</math>).</li> <li>• Pembentukan biofilm paling sering terdeteksi pada tiga jenis berikut; A. baumannii (62%), P.</li> </ul>

		biofilm pada isolat bakteri yang diperoleh dari pasien dengan infeksi kaki diabetik (DFI).			<p>aeruginosa (52%) dan Klebsiella spp. (40%).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Faktor risiko signifikan yang terkait dengan biofilm : paparan antibiotik, rekuren dalam 6 bulan, riwayat amputasi, rawat inap 3 bulan krn rekuren DFI. mikroorganisme multidrug-resistant (MDR) dan mikroorganisme yang sangat resistan terhadap obat (XDR),</li> </ul>
Haryanto,Ogai,Nakagami,Oe,&Nakatani. <i>Journal of Wellness and Health Care.</i> 2017	A prospective observational study using sea cucumber and honey as topical therapy for diabetic foot ulcers in Indonesia	untuk mengevaluasi penyembuhan dan mengevaluasi efek teripang pada biofilm	Deteksi biofilm di lakukan <i>wound blotting</i>	42 DFU	Pada kelompok intervensi teripang di dapatkan 10 partisipan dari pewarnaan menunjukkan positif biofilm positif dan 9 peserta menunjukkan negatif biofilm

**Gambar 1: PRISMA Flow diagram**

