



Penggunaan KOH *String Test* Sebagai Alternatif Identifikasi Awal Bakteri Gram Negatif

Elisa Rinihapsari¹, Shelfi Julianasya²

^{1,2} Prodi D3 Analis Kesehatan Politeknik Katolik Mangunwijaya

Jl. Mayjen Sutoyo no. 69 Semarang

Korespondensi penulis: elisarinihapsari@gmail.com

Abstract. KOH string test is a simple identification method without staining, requiring only one reagent to determine the Gram reaction in bacteria. Considering the simplicity of this method, its use needs to be introduced further. However, to ensure the validity of this method, research needs to be carried out to verify the results of the KOH string test when compared with the identification method using Gram staining, which is the gold standard. This study aimed to determine whether there is a difference in the identification results between Gram staining and the KOH string test in determining the Gram characteristics of bacteria, especially Gram-negative bacteria, to find out whether there is a difference in the length of mucus produced from the KOH string-test between KOH reagent concentrations of 1, 3, and 5%, as well as knowing the KOH concentration that was best used for bacterial identification with the KOH string test. The results of the study showed that there was no difference in results between identification using Gram staining and the KOH string test. Statistical results showed a significant difference between the mucus lengths of the three reagent concentrations, and 3% KOH was the recommended reagent for use in the KOH string test method.

Keywords: Gram Staining, KOH String Test, Negative-Gram Bacteria

Abstrak. KOH string test adalah metode identifikasi sederhana tanpa pewarnaan, yang hanya membutuhkan satu reagen untuk menentukan reaksi Gram pada bakteri. Mengingat kemudahan dari metode ini, maka penggunaannya perlu diperkenalkan lebih jauh. Namun demikian, untuk meyakinkan validitas dari metode ini, perlu dilakukan penelitian untuk memverifikasi hasil dari KOH string test jika dibandingkan dengan metode identifikasi dengan pewarnaan Gram yang menjadi baku emasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil identifikasi antara pewarnaan Gram dengan KOH string test dalam menentukan sifat Gram bakteri, khususnya bakteri Gram negatif, untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan panjang lendir yang dihasilkan dari KOH string test antara reagen KOH konsentrasi 1, 3, dan 5%, serta mengetahui konsentrasi KOH yang paling baik digunakan untuk identifikasi bakteri dengan KOH string test. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil antara identifikasi dengan pewarnaan Gram maupun dengan KOH string test. Hasil statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara panjang lendir dari tiga konsentrasi reagen, dan KOH 3% adalah reagen yang disarankan untuk digunakan dalam metode KOH string test.

Kata kunci: Bakteri gram negatif, KOH string test, pewarnaan Gram

LATAR BELAKANG

Pewarnaan Gram adalah metode identifikasi awal yang paling umum dilakukan untuk klasifikasi maupun penentuan jenis bakteri dalam diagnosis bakteri patogen. Perbedaan sifat bakteri pada pewarnaan Gram ditunjukkan dengan terjadinya warna yang berbeda antara bakteri Gram positif (berwarna ungu) dengan bakteri Gram negatif (berwarna merah). Perbedaan tersebut karena adanya seri zat warna yang digunakan, dan adanya proses dekolorisasi yang menjadi titik kritis perbedaan kedua sifat bakteri tersebut.

Metode ini memiliki kelemahan yang dapat menyebabkan kesalahan dalam menentukan sifat bakteri. Dekolorisasi yang berlebihan akan membuat bakteri Gram positif dikenali sebagai Gram negatif, sedangkan pewarnaan yang berlebihan atau dekolourisasi yang kurang sempurna, bisa menyebabkan bakteri Gram negatif dikenali sebagai Gram positif (Dash&Payyappili, 2016). Kelemahan-kelemahan metode tersebut harus diantisipasi dengan meningkatkan keterampilan teknisi dalam melakukan pewarnaan Gram. Namun demikian, perlu juga dikembangkan metode lain yang memiliki kemampuan membedakan bakteri Gram positif dari bakteri Gram negatif, dengan akurasi seperti pewarnaan Gram.

KOH string-test adalah metode identifikasi sederhana tanpa pewarnaan, yang hanya membutuhkan satu reagen untuk menentukan reaksi Gram pada bakteri. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh E. Ryu dari Taiwan. Penggunaan metode ini tidak banyak dikenal di kalangan praktisi laboratorium mikrobiologi, meskipun sudah diperkenalkan sejak tahun 1938. Hal ini cukup mengherankan, karena pelaksanaan metode ini sangat mudah dilakukan serta menghemat waktu, dengan penggunaan hanya satu reagen yang cukup sederhana, yaitu KOH (Powers, 1995). *KOH string-test* membedakan sifat bakteri dengan adanya pembentukan lendir apabila koloni bakteri direaksikan dengan reagen KOH. Koloni bakteri Gram negatif akan bereaksi secara positif dengan terbentuknya lendir, sedangkan koloni bakteri Gram positif tidak akan menunjukkan reaksi apapun.

Mengingat kemudahan dari metode ini, maka penggunaannya perlu diperkenalkan lebih jauh. Namun demikian, untuk meyakinkan validitas dari metode ini, perlu dilakukan penelitian untuk memverifikasi hasil dari *KOH string-test* jika dibandingkan dengan metode identifikasi dengan pewarnaan Gram yang menjadi baku emasnya.

Reagen KOH yang digunakan dalam *KOH string-test* umumnya adalah 3% (Dash&Payyappili, 2016). Penggunaan konsentrasi di bawah 3% akan meningkatkan efisiensi pada penggunaan reagen KOH di laboratorium. Penelitian ini selain bertujuan melakukan verifikasi metode *KOH string-test* dibandingkan dengan pewarnaan Gram, juga ingin mengetahui apakah variasi konsentrasi reagen KOH, yaitu 1,3, dan 5% akan menyebabkan perbedaan pada panjang lendir yang dihasilkan.

KAJIAN TEORITIS

Menurut Daniel (2000) meski dijelaskan lebih dari seabad silam, pewarnaan Gram paling sering digunakan sebagai uji diagnostik cepat dan dilanjutkan dengan berbagai tes biokimia yang menjadi landasan dari laboratorium klinis. Pertama kali dijelaskan oleh ahli patologi Denmark, Christian Gram pada 1884 dan kemudian sedikit dimodifikasi. Prinsip

pewarnaan Gram yaitu bahwa beberapa bakteri tidak luntur/terdekolorisasi dan mempertahankan warna zat warna utama, warna dari gentian violet dan terwarnai oleh zat warna penutup, contoh: karbol fuschin encer atau safranin (bakteri Gram negatif) (Pukharakabam, 2019).

Prosedur pewarnaan Gram yang merupakan pewarnaan diferensial menurut menggunakan lebih dari satu pewarna dan memiliki reaksi yang berbeda untuk setiap bakteri, sehingga digunakan untuk membedakan bakteri. Pada pewarnaan Gram, bakteri yang telah difiksasi dengan panas dapat membentuk warna pada objek gelas diwarnai dengan pewarna basa yaitu kristal ungu. Karena warna ungu memenuhi semua sel, maka pewarnaan ini disebut pewarnaan primer. Selanjutnya pewarna dicuci dan pada spesimen ditetesi iodine yang merupakan *mordant* (penajam). Setelah iodine dicuci, baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif tampak berwarna ungu. Selanjutnya spesimen dicuci dengan alkohol yang merupakan senyawa peluntur warna yang pada spesies bakteri tertentu dapat menghilangkan warna ungu dari sel. Setelah alkohol dicuci, spesimen diwarnai kembali dengan safranin yang merupakan pewarna basa berwarna merah. Bakteri yang tetap berwarna ungu digolongkan ke dalam Gram positif, sedangkan bakteri yang berwarna merah digolongkan ke dalam Gram negatif (Pratiwi, 2008).

Perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada dinding selnya. Dinding bakteri Gram positif banyak mengandung peptidoglikan, sedangkan dinding bakteri Gram negatif banyak mengandung lipopolisakarida. Kompleks kristal ungu-iodine yang masuk ke dalam sel bakteri Gram positif tidak dapat tercuci oleh alkohol karena adanya lapisan peptidoglikan yang kokoh pada dinding sel, sedangkan pada bakteri Gram negatif alkohol akan merusak lapisan lipopolisakarida. Kompleks kristal ungu-iodine pada bakteri Gram negatif dapat tercuci dan menyebabkan sel bakteri tampak transparan yang akan berwarna merah setelah diberi safranin (Pratiwi, 2008).

Beberapa hal diketahui merubah hasil pewarnaan Gram. Sinar ultraviolet, antibiotik, fiksasi panas berkepanjangan, penghancuran sel yang tidak dilindungi pada *slide*, atau autolisis oleh enzim seperti ribonuklease atau lisozim semuanya terbukti menyebabkan bakteri Gram positif terwarnai oleh Gram menjadi negatif. Usia kultur juga memengaruhi derajat Gram positif, dengan sel-sel berusia 48 jam kadang-kadang lebih banyak Gram positif daripada sel yang lebih muda (Steinbach dan Shetty, 2001).

Pewarnaan Gram adalah prosedur yang sangat berguna dalam membedakan antara kelompok bakteri, namun memiliki beberapa kelemahan. Jika kultur yang diwarnai sudah tua, akan terjadi hasil negatif palsu yaitu bakteri Gram positif terwarnai Gram negatif. Ada juga

kemungkinan terjadi kesalahan dari faktor manusia, seperti melewati salah satu langkah dalam pewarnaan. Kesalahan yang paling sering terjadi adalah dekolorisasi berlebihan dengan alkohol, menyebabkan bakteri Gram positif menjadi terlihat Gram negatif. Karena pewarnaan Gram dapat memberikan hasil yang bervariasi, banyak klinik telah menggunakan *KOH string test*, bersama dengan pewarnaan Gram untuk meningkatkan validitas hasil. *KOH string test*, dilakukan dengan kalium hidroksida (KOH), tidak boleh menjadi satu-satunya tes yang dilakukan karena tidak memberikan informasi mengenai morfologi sel (Arthi, et al., 2003; Watson, 2019).

Beberapa modifikasi yang dikemukakan oleh Bailey & Scott's (2007); Spengler, et.al (1978); Cerny (1976) dan Halebian, et.al (1981) dalam Dash & Payyappili (2016) beberapa tes pengenalan dibuat untuk mengatasi kekurangan dalam pewarnaan Gram. Prosedur *KOH string test* menurut Gregersen (1978) dilakukan dengan menempatkan isolat bakteri pada objek gelas yang mengandung 1-2 tetes KOH 3% menggunakan loop inokulasi. Bakteri dicampur secara menyeluruh dengan KOH 3%. Reaksi bakteri Gram negatif ditunjukkan oleh adanya lendir dalam loop inokulasi. Menurut penelitian (Chandra & Mani, 2011) dan (Powers, 1995) *KOH string test* dilakukan dengan mencampurkan sejumlah bakteri yang telah dibuat suspensinya dengan 3 ml zat KOH 3% cair pada *slide* preparat. Campuran ini diaduk terus menerus menerus dengan loop bakteriologis dalam area 1-2 cm pada *slide* preparat. Jika gel suspensi tersebut atau menjadi kental dan terdapat string ketika ose diangkat (reaksi KOH positif) berarti bakteri adalah Gram negatif. Sel bakteri Gram positif tidak membentuk gel kental atau *string* (reaksi negatif KOH). Waktu *cut-off* untuk reaksi negatif adalah 60 detik.

Hasil KOH string-test paling baik diamati dengan menaikkan ose sekitar 1 cm di atas *slide*. Memegang *slide* dengan sudut pada latar belakang gelap juga membantu pengamatan. *KOH string test* memiliki sensitivitas hingga 81% terhadap bakteri Gram negatif (Carlone, Valadez dan Pickett, 1983). Bakteri Gram negatif menghasilkan hasil reaksi KOH positif dikarenakan dinding selnya memiliki lapisan peptidoglikan tipis sangat mudah hancur saat terpapar dengan bahan alkali. Saat dinding sel bakteri hancur dalam 3% KOH, suspensi pun menjadi kental dalam 5-60 detik dan keluarnya benang diakibatkan oleh pelepasan benang DNA yang tidak terfragmen. Namun dinding sel bakteri Gram positif tidak terpengaruh oleh larutan KOH 3%, hal ini diakibatkan karena memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dan *teichoic acid* dalam jumlah banyak (Powers, 1995).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental untuk membandingkan metode identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram dan *KOH string-test*. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah suspensi bakteri Gram positif kokus *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif batang *Escherichia coli*. Tiap jenis bakteri akan diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan *KOH string-test* dengan 3 konsentrasi reagen KOH yang berbeda yaitu 1, 3 & 5%. Penelitian dilakukan di Laboratorium Medis Program Studi D3 Analisis Kesehatan Politeknik Katolik Mangunwijaya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: kaca objek, ose bulat, ose tusuk, lampu spiritus, cawan petri, autoklaf, oven, *beaker glass*, erlenmeyer, *hotplate*, timbangan digital, gelas ukur, batang pengaduk, botol timbang, sendok timbang, tali pengikat, *waterbath*, tabung alkali bertutup ulir, pinset, inkubator, bak pengecatan, mikroskop binokuler, botol semprot. Bahan yang dipakai adalah kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, larutan KOH konsentrasi 1, 3, 5%, media *Brain Heart Infusion Broth*, aquadest, reagen pewarnaan Gram (Gram A (kristal violet), Gram B (lugol), Gram C (alkohol 96%) dan Gram D (safranin), reagen KOH 1%; 3%; 5%, minyak imersi, dan kertas lensa.

Prosedur identifikasi bakteri dilakukan dengan pewarnaan Gram dan *KOH string test*. Pewarnaan Gram mengikuti prosedur standar menggunakan larutan Gram A, B, C, dan D (Kemenkes RI, 2014; ASM, 2016). Preparat diamati dengan mikroskop menggunakan lensa objektif perbesaran 100x dengan penambahan *immersion oil*. Replikasi pembuatan preparat dilakukan sebanyak 6 kali untuk masing-masing bakteri, diperhatikan warna sel di seluruh permukaan lapang pandang, dilakukan pengamatan pada 5 lapang pandang. Hasil warna sel dinyatakan sebagai persentase sel yang berwarna sesuai teori.

Prosedur *KOH string test* dilakukan menggunakan koloni bakteri yang berasal dari kultur padat. Koloni diambil dengan ose tusuk, diletakkan pada permukaan kaca objek yang telah diberi reagen KOH 1, 3 atau 5% sebanyak 1 tetes, dihomogenkan selama 1 menit. Suspensi yang terbentuk di permukaan kaca objek diangkat dengan menggunakan ose, ditarik hingga berjarak 1 cm dari kaca objek dan diamati ada tidaknya lendir/*string/mucin* yang terbentuk (Laboratory Manager, 2002). Lendir yang terbentuk diukur panjangnya menggunakan penggaris. Replikasi dilakukan 6 kali untuk masing-masing bakteri pada setiap konsentrasi. Pengukuran panjang lendir dilakukan sebanyak 5 kali pada tiap *slide* yang dibuat.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data numerik, untuk pengamatan hasil pewarnaan Gram berupa persentase sel pada lapang pandang, sedangkan hasil *KOH string test* berupa panjang lendir yang terbentuk. Data hasil identifikasi dengan *KOH string-test* yang

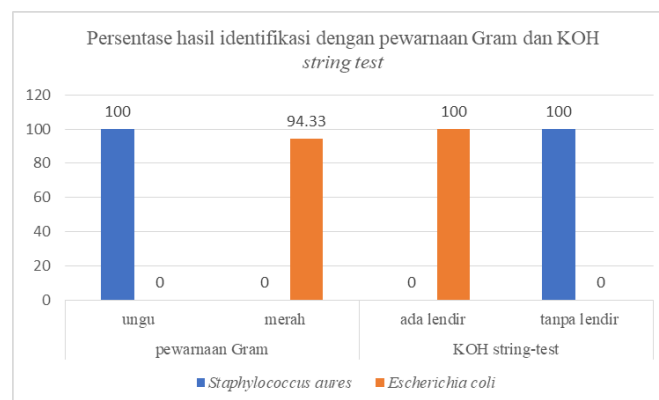
diperoleh dilakukan analisis statistik, untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan panjang lendir antar konsentrasi KOH. Uji yang dipilih adalah uji beda antar kelompok, yaitu *one way anova* (jika data terdistribusi normal) atau Kruskal Wallis jika data terdistribusi tidak normal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan verifikasi terhadap metode KOH *string test* jika dibandingkan dengan metode pewarnaan Gram dalam melakukan identifikasi bakteri, khususnya untuk bakteri Gram negatif. Dalam penelitian ini digunakan *Escherichia coli* sebagai wakil bakteri Gram negatif, dan *Staphylococcus aureus* sebagai contoh bakteri Gram positif. Hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 1 berikut ini.

Tabel 1. Persentase hasil pemeriksaan dengan metode pewarnaan Gram dan KOH *string test*

bakteri	% hasil pewarnaan Gram		% hasil KOH <i>string-test</i>	
	ungu	merah	ada lendir	tanpa lendir
<i>Escherichia coli</i>	0	94,33	100	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	0	0	100



Gambar 1. Persentase hasil identifikasi dengan pewarnaan Gram dan KOH *string-test*

Hasil pada tabel 1 dan gambar 1 menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* menunjukkan 94.33% kesesuaian dengan sifat Gram bakteri tersebut yaitu Gram negatif yang ditunjukkan dengan sel bakteri yang berwarna merah oleh pewarnaan Gram, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan 100% kesesuaian dengan sifat Gram bakteri tersebut, yaitu Gram positif yang ditunjukkan dengan sel bakteri yang berwarna ungu oleh pewarnaan Gram.

Sampel koloni bakteri batang Gram negatif *Escherichia coli* yang dilakukan pewarnaan Gram didapatkan bakteri dengan morfologi bentuk batang pendek, berwarna merah dengan susunan menyebar. Pada semua pengulangan perlakuan didapatkan persentase rata-rata 94.33%. Hal ini sesuai dengan yang ditulis oleh Pratiwi (2008) yang menyatakan bahwa bakteri Gram negatif akan berwarna merah oleh pewarnaan Gram.

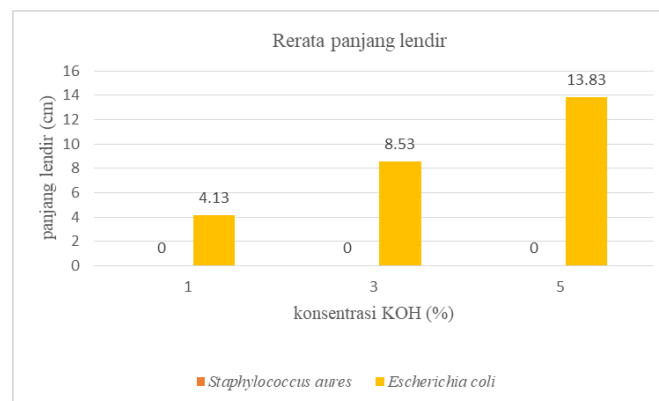
Pada sampel koloni bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* yang dilakukan pewarnaan Gram didapatkan bakteri dengan morfologi bentuk bulat, berwarna ungu dengan susunan bergerombol. Pada semua pengulangan perlakuan didapatkan persentase 100%, sesuai dengan yang ditulis oleh Pratiwi (2008) yang menyatakan bahwa bakteri Gram positif akan berwarna ungu oleh pewarnaan Gram.

Untuk hasil pemeriksaan dengan metode *KOH string test*, bakteri *Escherichia coli* menunjukkan 100% kesesuaian dengan sifat Gram bakteri tersebut yaitu Gram negatif yang menghasilkan lendir apabila koloni direaksikan dengan KOH. Bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan 100% kesesuaian dengan sifat Gram bakteri tersebut, yaitu Gram positif yang tidak membentuk lendir jika koloni direaksikan dengan KOH. Hal ini sesuai dengan pernyataan oleh Chandra & Mani (2011). Hasil pemeriksaan lebih jauh untuk mencermati lendir yang terbentuk, dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 2 berikut ini.

**Tabel 2. Hasil rerata pengukuran panjang lendir pada pemeriksaan
*KOH string-test***

bakteri	panjang lendir pada konsentrasi KOH yang berbeda (cm)		
	1%	3%	5%
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	4,13	8,53	13,83

Dapat digambarkan pada grafik berikut ini.



Gambar 2. Rerata panjang lendir hasil KOH string test

Secara umum diperoleh kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi reagen KOH yang digunakan, akan semakin panjang lendir yang dihasilkan. Bakteri *Staphylococcus aureus* sama sekali tidak membentuk lendir apabila direaksikan dengan KOH konsentrasi 1%, 3% dan 5%, sehingga datanya dinyatakan sebagai 0 cm. Untuk mengetahui apakah secara statistik terdapat perbedaan yang signifikan antara panjang lendir dari ketiga konsentrasi KOH, maka dilakukan uji statistik. Uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna perbedaan antara panjang lendir yang dihasilkan dari konsentrasi KOH 1, 3, 5% dengan nilai signifikansi 0,000. Uji statistik dilanjutkan dengan Mann Whitney untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara panjang lendir yang dihasilkan antar konsentrasi. Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara panjang lendir yang dihasilkan dari konsentrasi KOH 1 dengan 3%, antara panjang lendir yang dihasilkan dari konsentrasi KOH 1 dengan 5%, dan antara panjang lendir yang dihasilkan dari konsentrasi KOH 3 dengan 5%. Ketiganya ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,000.

Bakteri Gram negatif dapat memberikan hasil positif berupa terbentuknya benang lendir pada pemeriksaan *KOH string test* menurut Gregersen (1978) karena pada dinding sel bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga mudah dirusak oleh larutan alkali lemah. Larutan alkali akan melisiskan sel bakteri sehingga komponen di dalam sel akan keluar terutama fragmen DNA yang akan membentuk kekentalan karena bereaksi dengan alkali. Sedangkan pada bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal tidak mudah dirusak oleh larutan alkali.

Perbedaan tinggi lendir yang didapatkan dari hasil uji statistik ini disebabkan oleh perbedaan konsentrasi reagen KOH yang digunakan. Semakin besar konsentrasi reagen yang digunakan, maka benang lendir yang terbentuk semakin tinggi. Konsentrasi reagen yang semakin tinggi menyebabkan kerusakan sel bakteri akibat terpapar alkali makin besar,

sehingga kekentalan yang terbentuk makin banyak. Kekentalan yang keluar dari dalam sel inilah yang tampak sebagai lendir yang dihasilkan.

Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya. Penelitian dengan menggunakan metode *KOH string test* sebagai metode pemeriksaan alternatif pada tahap awal identifikasi bakteri yang dilakukan Kumar (2015), Dash & Payyappilli (2016) Chandra & Mani (2011) serta Romero et.al (1988) hanya menggunakan reagen KOH dengan konsentrasi 3%, sedangkan pada penelitian ini dengan membandingkan tinggi lendir yang dihasilkan pada konsentrasi reagen KOH yang berbeda. Meskipun secara statistik terdapat perbedaan panjang lendir antara ketiga konsentrasi reagen KOH, namun dari ketiga konsentrasi tersebut, lendir sudah terbentuk dan cukup jelas diamati selama penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi dapat digunakan, namun disarankan untuk tetap menggunakan konsentrasi 3% dengan pertimbangan efisiensi reagen, dan kemudahan dalam pengamatan lendir yang terbentuk.

Penggunaan metode *KOH string test* terbukti sama efektifnya dengan metode pewarnaan Gram dalam membedakan bakteri Gram positif dengan bakteri Gram negatif. Namun metode ini memiliki beberapa kelemahan praktis, yaitu tidak dapat diketahuinya morfologi bakteri. Selain itu, koloni bakteri yang digunakan akan lebih mudah terdeteksi hasilnya apabila berupa kultur murni dalam kultur padat. Apabila diaplikasikan dalam pemeriksaan bakteriologi klinik, maka identifikasi dengan *KOH string test* memerlukan lebih lama untuk memisahkan bakteri menjadi kultur murni. Metode *KHO string test* tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi langsung bakteri dari spesimen hasil usap, atau yang berupa bakteri dalam bentuk kultur campuran.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil identifikasi antara pewarnaan Gram dengan *KOH string test* dalam menentukan sifat Gram bakteri, khususnya bakteri Gram negatif. Juga diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan panjang lendir yang dihasilkan dari *KOH string-test* antara reagen KOH konsentrasi 1, 3, dan 5%. KOH dengan konsentrasi 3% adalah reagen yang paling baik digunakan untuk identifikasi bakteri dengan metode *KOH string test*.

Penggunaan metode *KOH string-test* disarankan untuk identifikasi cepat kultur tunggal dalam bentuk padat, namun tidak disarankan untuk dilakukan pada identifikasi bakteri yang membutuhkan informasi mengenai struktur dan morfologi bakteri.

DAFTAR REFERENSI

- American Society of Microbiology. (2016). Gram Stain Protocols. <https://asm.org/getattachment/5c95a063-326b-4b2f-98ce-001de9a5ece3/gram-stain-protocol-2886.pdf>
- Arthi K., Appalaraju B., Parvathi S. (2003). Vancomycin sensitivity and KOH string test as an alternative to gram staining of bacteria. *Indian J Med Microbiol.* Apr-Jun;21(2):121-3. PMID: 17642996
- Carlone GM, Valadez MJ, Pickett MJ. (1982). Methods for distinguishing gram-positive from gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol.* Dec;16(6):1157-9. doi: 10.1128/jcm.16.6.1157-1159.1982.
- Chandra T. J., & Mani S. (2011). A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. *J Med Allied Sci.* 2011; 1(2): 84-85.
- Daniel MM. (2000). Bacteriology-Haemophilus species. Baron Medical Microbiology. 8th ed. Wright's Books, London
- Dash C. & Payyappilli R.J. (2016). KOH String and Vancomycin susceptibility test as an alternative method to Gram staining. *Journal of International Medicine and Dentistry.* DOI: 10.18320/JIMD/201603.0288
- Gregersen, T. Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 5, 123–127 (1978). <https://doi.org/10.1007/BF00498806>
- Kemenkes RI. (2014). Prosedur Pemeriksaan Bakteriologi Klinik. Kementerian Republik Indonesia. Jakarta
- Kumar K.M. (2015). KOH string test and Vancomycin Sensitivity Test Resolves the Ambiguity of Gram Staining Reaction. Department of Microbiology, Sree Balaji Medical College, India.
- Laboratory Manager. (2002). KOH String Test Procedure Manual. Toronto Medical Laboratories/ Mount Sinai Hospital Microbiology Department. <https://eportal.mountsinai.ca/Microbiology/manual/tech/tech22.pdf>
- Powers EM. (1995). Efficacy of the Ryu Nonstaining KOH Technique for Rapidly Determining Gram Reactions of Food-borne and Waterborne Bacteria and Yeasts. *Appl Environ Microbiol.* Oct;61(10):3756-8. doi: 10.1128/aem.61.10.3756-3758.1995. PMID: 7487012; PMCID: PMC167675.
- Pratiwi SUT. (2008). Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- Pukhrambam N. (2019). Comparison of original gram stain and its modification in the gingival plaque samples. *J Bacteriol Mycol Open Access.* 9;7(1):1-3. DOI: 10.15406/jbmoa.2019.07.00231

Romero S., Schell RF., Pennell. (1988). Rapid method for the differentiation of gram-positive and gram-negative bacteria on membrane filters. *J Clin Microbiol.* Jul;26(7):1378-82. doi: 10.1128/jcm.26.7.1378-1382.1988. PMID: 2457600; PMCID: PMC266613.

Steinbach WJ, Shetty AK. (2001). Use of the diagnostic bacteriology laboratory: a practical review for the clinician. *Postgrad Med J. Mar;* 77(905):148-56. doi: 10.1136/pmj.77.905.148. PMID: 11222821; PMCID: PMC1741955..

Watson, Rachel M. (2019). General Microbiology. Creative Commons