

Literature Review: Genetic Isolation and Characterization of *Klebsiella pneumoniae* Bacteriophage Using Double Layer Agar and Transmission Electron Microscopy (TEM) Methods

Literatur Review: Isolasi Genetik dan Karakterisasi Bakteriofaga *Klebsiella pneumoniae* menggunakan Metode Double Layer Agar dan Transmission Electron Microscopy (TEM)

Yesiska Yulita¹, Dwi Hilda Putri^{1*}, Rosantia Sarassari², Irdawati¹, Siska Alicia Farma¹

¹ Department of Biology , Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang , West Sumatera, Indonesia

²Department Nasional Research and Innovation Agency, BRIN, Indonesia

*Correspondence author: dwiwildaputri.08@gmail.com

Abstract

*The increasing antibiotic resistance, particularly in cases of *Klebsiella pneumoniae* bacterial infections, makes it crucial to find alternative solutions, one of which is bacteriophage agents. Bacteriophages have the ability to destroy and kill bacteria, a capability that can be detected through isolation and characterization. This study aimed to analyze bacteriophage isolation against *Klebsiella pneumoniae* bacteria using the double-layer assay and TEM characterization methods. The research method was qualitative and employed a literature review technique. The findings indicated that bacteriophage isolation against *Klebsiella pneumoniae* bacteria can be performed using the double-layer assay method. Through this method, bacteriophage activity in killing bacteria is demonstrated by the formation of a clear plaque on the media due to the lysis of the bacterial cell wall. Characterization was performed after bacterial isolation using the Transmission Electron Microscopy (TEM) method to identify phages based on their morphology, shape, size, and classification. TEM characterization can confirm whether the isolated phages are new or different and can be classified based on the characteristics obtained. Thus, this method is effective in detecting bacteriophages that can be used as therapeutic agents or biocontrol agents.*

Keyword : Bacteriophage, Double Layer Assay, Genetic Isolation, *Klebsiella pneumoniae*, TEM

Abstrak

Peningkatan resistensi antibiotik terutama pada kasus infeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* menjadikan penting adanya alternatif yang dapat mengatasi hal tersebut, salah satunya dengan agen bakteriofaga. bakteriofaga memiliki kemampuan menghancurkan dan membunuh bakteri dimana kemampuan ini dapat dideteksi melalui isolasi dan karakterisasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis isolasi bakteriofaga terhadap bakteri *K. pneumoniae* dengan metode double layer assay dan karakterisasi TEM. Metode penelitian berupa penelitian berjenis kualitatif dengan teknik

literatur review. Hasil temuan menunjukkan bahwa isolasi bakteriofaga terhadap bakteri *K.pneumoniae* dapat dilakukan dengan metode *double layer assay*. Melalui metode ini, aktivitas bakterifaga dalam membunuh bakteri ditunjukkan dari terbentuknya clear plaque pada media akibat lisisnya sel dinding bakteri. Karakterisasi dilakukan setelah isolasi bakteri dengan metode TEM (*Transmission Electron Microscopy*) untuk mengidentifikasi fag dari morfologi bentuk, ukuran, dan klasifikasinya. Karakterisasi dengan TEM ini dapat memastikan jika fag yang telah diisolasi merupakan fag baru ataupun berbeda dan diklasifikasikan sesuai karakter yang didapatkan. Dengan demikian, metode ini efektif dalam mendeteksi bakteriofag yang dapat digunakan sebagai agen terapi maupun agen biokontrol.

Kata kunci : Bakteriofaga, *Double Layer Assay*, Isolasi Genetik, *Klebsiella pneumoniae*, TEM

Pendahuluan

Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* merupakan salah satu bakteri pathogen oportunistik yang menjadi penyebab infeksi dari saluran respirasi, infeksi perluaan ataupun nosocomial di lingkungan rumah sakit. Patogen oportunistik dari *K. pneumoniae* ini bisa mengkolonisasi permukaan mukosa dan menyebar dari mukosa menuju jaringan lain sehingga terjadi infeksi fatal. Penyakit abses hati, pneumonia, bakteremia, dan infeksi saluran kemih dipicu oleh *K.pneumonia* dimana secara historis pasien dengan gangguan imun dijadikan target utama infeksi serius dari bakteri ini (Effah, Sun, Liu, & Wu, 2020). Dalam upaya mengatasi infeksi bakteri, bidang kesehatan menekankan penggunaan antibiotik sebagai pengobatan utama. Fenomena yang menjadi permasalahan yaitu tingginya resistensi antimikroba pada *K.pneumonia* yang menjadi bahaya nyata di Asia saat ini (Effah *et al.*, 2020). Hal ini juga disebutkan dalam Rahmi & Putri (2020) bahwa kasus infeksi yang semakin tinggi terjadi karena meningkatnya resistensi kuman terhadap agen antimikroba. Resistensi antimikroba dan resistensi antibiotik menjadi ancaman terbesar pada bidang kesehatan era modern yang menurunkan efektivitas terapi dari infeksi bakteri, virus dan patogen lainnya (Astrid *et al.*, 2026). Pengobatan infeksi *Klebsiella* sulit dilaksanakan karena strain bakteri ini menunjukkan adanya peningkatan resistensi antibiotik karena faktor virulensinya (Abbas *et al.*, 2024). Bakteri ini termasuk berbahaya karena *K.pneumoniae* memiliki kemampuan kebal terhadap beragam jenis antibiotic (*multidrug resistance/MDR*) dimana mekanisme kekebalan ini menjadikan produksi enzim beta-laktamase spektrum luas dan karbapenemases sehingga pengobatan sulit dilakukan (Aminah *et al.*, 2025). Hal inilah yang mendorong adanya solusi baru dalam menekan angka resistensi seperti dengan penggunaan senyawa antimikroba baru (Nuraini *et al.*, 2026).

Seiring tingginya tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik dibutuhkan inovasi baru seperti eksplorasi bakterifaga yang berperan sebagai agen terapi dan biokontrol. Bakteriofaga merupakan agen yang relevan dalam konteks ini karena secara khusus memiliki kemampuan dalam menginfeksi dan menghancurkan bakteri secara langsung. Bakteriofag ini termasuk virus yang dapat menginfeksi bakteri inang dengan spesifik yang bisa ditemukan melimpah di lingkungan (Liu, Quek, & Huang, 2023). Bakteriofag tersusun atas molekul asam nukleat dengan lapisan pelindung yang memanfaatkan endolisin dalam mendegradasi dinding sel dari bakteri sehingga agen ini memiliki mekanisme dalam menghambat bakteri gram positif ataupun negatif (Prasetyo & Kunci, 2025). Eksistensi

bakteriofaga menyimpan urgensi dalam penelitian sebagai alternatif dalam mengendalikan bakteri pathogen.

Isolasi bakteriofaga ini dapat dilakukan melalui berbagai teknik dan metode, salah satunya dengan metode *double layer assay*. Isolasi dapat dilakukan dengan inokulasi isolat bakteri pada media yang sesuai (Irdawati *et al.*, 2025). Dalam penelitian ini, metodenya yaitu *double layer assay* dengan penggunaan agar sebagai media. Metode ini cukup populer digunakan karena mempunyai konsep sederhana namun efektif dalam mendeteksi adanya fag dengan terbentuknya *plaque* yaitu zona bening di lapisan inang. Plak yang terlihat ini menjadi penanda aktivitas lisis dari bakteriofaga terhadap bakteri target sehingga bisa dijadikan indikator bahwa isolasi yang dilakukan berhasil. *Double layer assay* juga menjadi metode yang mampu melakukan perhitungan titer fag sekaligus memurnikan isolate bakteriofaga yang didapatkan. Hal ini ditegaskan dalam penelitian Qodriyah, Meilina, & Jannah (2025) bahwa metode *double layer* dalam proses isolasi fag dikatakan berhasil apabila terbentuk plak di media tersebut. Adanya fag ditunjukkan dari *clear plaque*. Metode ini dapat menunjukkan bakteriofaga yang sifatnya litik (membunuh bakteri) dengan plak berbentuk bulat, jernih dan jelas yang menunjukkan aktivitas penghancuran bakteri (Aminah *et al.*, 2025).

Langkah selanjutnya setelah isolasi, maka bakteriofaga dilakukan karakterisasi yang bertujuan memahami sifat morfologi maupun stuktur dari fag. Konsep karakterisasi berkaitan dengan proses mengambbarkan secara terperinci sifat dari isolat bakteri setelah dilakukan identifikasi sehingga karakter yang dilihat dapat lebih spesifik. Karakterisasi dapat ditentukan melalui perubahan dari yang terjadi seperti perubahan hasil warna pada karakterisasi *fluorescent Pseudomonas* (Advinda *et al.*, 2022). Pada penelitian ini, bakteri *K.pneumonia* setelah juga akan dilakukan karakterisasi. Teknik yang bisa digunakan yakni *Transmission Electron Microscopy* (TEM), yakni teknik observasi stuktur fag dengan mendetail dari bentuk ekor, kepala, bahkan ukuran dari partikel virus. Data ini penting dalam mengklasifikasikan bakteriofaga dan dijadikan penentu potensi aplikatif di bidang medis ataupun bioteknologi. Metode TEM juga diketahui mampu mengungkap gangguan integritas sel terhadap sel yang diuji dalam pengobatan sehingga menjadi penunjuk adanya aktivitas bakteriofag (Dawwam, 2024).

Penelitian yang relevan dengan penelitian ini misalnya Qodriyah *et al.* (2025) yang mengkaji mengenai potensi bakteriofag yang digunakan sebagai biocontrol pada kasus resistensi antibiotik. Penelitian Aminah *et al.*, (2025) meneliti mengenai isolasi, kuantifikasi dan morfologi dari plaq yang menjadi analisis bakteriofag *Klebsiella pneumoniae* menggunakan Double Layer Agar. Penelitian Dawwam (2024) membahas mengenai metode TEM (*Transmission Electron Microscopy*) pada konteks isolasi bakteriofaga *K.pneumoniae* namun, tidak membahas metode isolasi *double layer assay*. Penelitian lainnya seperti Hu *et al.*, (2025) membahas isolasi dan identifikasi dari *Klebsiella pneumoniae phage ΦK2046* yang dioprimalkan sebagai antibakteri pada kombinasi terhadap *chlorhexidine* sehingga dapat mengontrol resistensi antimiroba dan infeksi. Sejumlah penelitian terdahulu belum banyak mengungkap isolasi bakteriofaga *Klebsiella sp.* dengan metode *double layer assay* yang dilanjutkan proses karakterisasi menggunakan TEM sehingga penelitian ini menjadi kebutuhan untuk memenuhi kesenjangan ataupun *gap* tersebut.

Berbekal latar belakang tersebut, penelitian ini akan membahas lebih lanjut mengenai isolasi bakterifaga berupa *K.neumoniae* dengan metode *double layer assay* dan

karakterisasi dengan TEM dengan teknik literatur review. Penelitian ini akan mengungkap mekanisme isolasi bakteriofaga dengan metode tersebut. Hasil temuan diharapkan dapat berkontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama dalam teknik isolasi maupun karakterisasi dari bakteri. Temuan penelitian juga berkontribusi dalam pengembangan alternatif dalam mengendalikan bakteri pathogen secara efektif dan berkelanjutan.

Metode Penelitian

Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian kualitatif dengan metode studi literatur. Penelitian dengan pendekatan *library research* ini mengandalkan teknik analisis data terhadap literatur dan bahan kepustakaan secara mendalam misalnya dari jurnal, buku ataupun dokumen dalam rangka menjawab permasalahan penelitian. Pendekatan ini menekankan interpretasi teoritis dan temuan penelitian terdahulu dengan sistematis sehingga dihasilkan deskripsi kualitatif walaupun tidak observasi langsung di lapangan.

Sumber Data

Data penelitian melibatkan data sekunder dengan bersumber dari jurnal ilmiah dengan judul yang berkaitan terhadap topik penelitian yang terbit dalam kurun 10 tahun terakhir. Artikel dan jurnal ilmiah yang digunakan merupakan jurnal nasional ataupun internasional yang kredibel dan sesuai kata kunci penelitian yaitu "Bakteriofag, Klebsiella Pneumonia, Antibiotik, Double Layer Assay dan TEM". Dalam penelitian ini terdapat 6 artikel yang berhasil dianalisis dengan metode literatur review.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini melibatkan proses penelusuran literatur dari database Google Schoolar, Pubmed, dan Scopus untuk mendapatkan bahan kepustakaan baik jurnal nasional maupun internasional.

a. Kriteria Inklusi

1. Artikel ilmiah membahas mengenai bakteriofaga dan berfokus pada proses isolasi, karakterisasi, ataupun analisis genetik
2. Metode penelitian sesuai kata kunci penelitian yaitu metode *double layer agar* ataupun *transmission electron microscopy* (TEM)
3. Artikel termasuk penelitian asli yang dipublikasikan dalam rentang 2016-2026
4. Artikel dapat diakses secara penuh melalui Google Schoolar/Pubmed, Scopus dan terindeks Sinta/Scopus
5. Artikel dalam bahasa Inggris ataupun bahasa Indonesia, termasuk jurnal nasional ataupun internasional

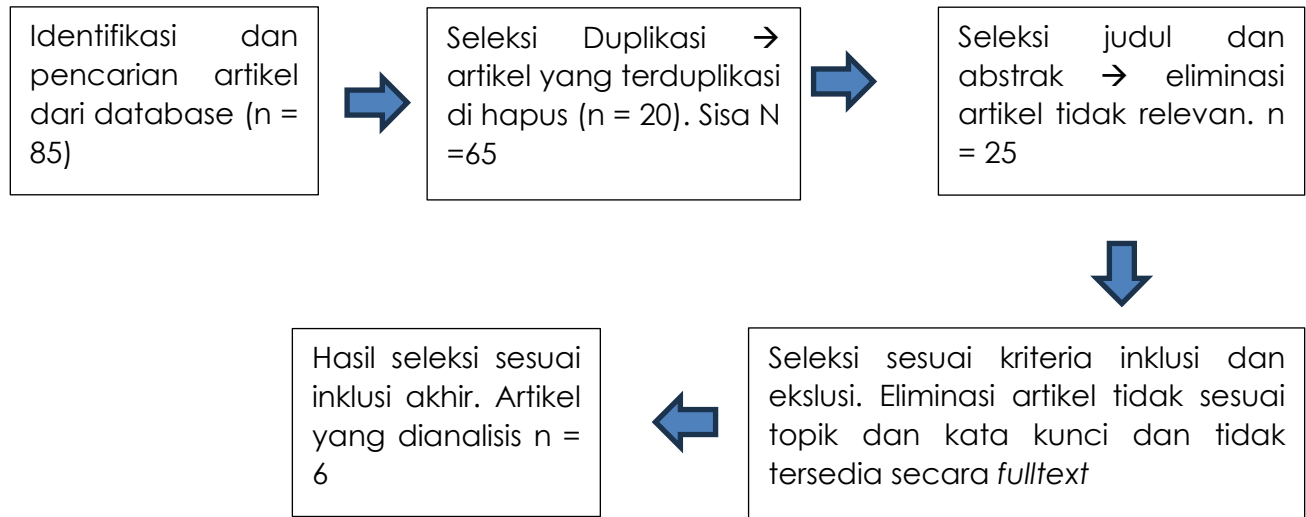
b. Kriteria Eksklusi

1. Artikel ilmiah membahas topik yang tidak relevan dan tidak berkaitan langsung dengan bahasan penelitian
2. Metode penelitian dalam artikel tidak sesuai dengan kata kunci penelitian
3. Artikel ilmiah dipublikasikan lebih dari 10 tahun terakhir, tidak memuat data lengkap, dan berbentuk skripsi penelitian tidak terpublikasi
4. Artikel tidak dapat diakses secara penuh

5. Bahasa dalam artikel tidak dapat diterjemahkan

c. Alur Penelitian

Akur seleksi literatur dilakukan sesuai teknik (PRISMA) dengan hasil 6 artikel yang dianalisis yang memenuhi kriteria inklusi sesuai topik penelitian. Database pencarian literatur yaitu Google Scholar PubMed, dan Scopus.



Teknik Analisis Data

Adapun teknik analisis data yaitu pengumpulan data, reduksi data, penyajian data, dan penarikan kesimpulan.

Hasil dan Pembahasan

Bakteriofag merupakan agen yang digunakan sebagai alternatif dalam membunuh bakteri sehingga dapat mengatasi permasalahan resistensi antibiotik yang marak terjadi (Qodriyah *et al.*, 2025). *Klebsiella pneumoniae* dapat menjadi salah satu target bakteriofag. Bakteri ini termasuk patogen prioritas dengan mekanisme resistensi multidrug (MDR) misalnya extended-spectrum β -lactamase dan carbapenemase, yang secara signifikan membatasi pilihan terapi dan meningkatkan kebutuhan akan alternatif antimikroba (Aminah *et al.*, 2025).

Isolasi bakteriofaga dapat dilakukan dengan metode *double layer assay* dan dilanjutkan karakterisasi dengan metode TEM. Berikut merupakan Tabel 1 yang menunjukkan analisis terhadap artikel jurnal ilmiah yang berkaitan dengan bakteriofaga *K. pneumonia* dengan isolasi metode *double layer assay* dan karakterisasi TEM.

Tabel 1. Isolasi Bakteriofaga dengan Metode *Double Layer Assay* dan Karakterisasi TEM

NO	Judul	Nama Tahun	Temuan
1	"Isolation, Quantification, and	(Aminah <i>et al.</i> , 2025)	Deteksi bakteriofaga dapat dilakukan dengan metode <i>double layer assay</i> , yang

NO	Judul	Nama Tahun	Temuan
	Plaque Morphology Analysis of Lytic Bacteriophages from River Water Targeting Clinical MDR <i>Klebsiella pneumoniae</i> Using the Double-Layer Agar Method"		ditandai dengan terbentuknya plak jernih (<i>clear plaque</i>) pada media. Plak ini menunjukkan aktivitas litik bakteriofaga dalam melisis bakteri, termasuk <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang resisten terhadap antibiotik, sehingga berpotensi sebagai alternatif terapi. Selain itu, metode ini juga memungkinkan penentuan titer bakteriofaga melalui pengenceran bertingkat.
2	"Antibacterial efficacy of a K5-specific <i>Klebsiella</i> phage in milk and investigation of phage resistance mechanisms"	(Li et al., 2025)	Metode <i>double layer assay</i> digunakan untuk menilai kemampuan fag menginfeksi <i>Klebsiella pneumoniae</i> melalui pembentukan plak. Terbentuknya plak menunjukkan bakteri sensitif terhadap fag, sedangkan tidak terbentuknya plak menandakan bakteri resisten.
3	"Serial dilutions of the filtered supernatant were prepared, and were used for the double-layer agar assay to detect and quantify phage. "	(Mirza, Tchatchiashvili, Marquet, Nietzsche, & Pletz, 2025)	Sampel yang diuji dapat dianalisis dengan metode <i>double layer agar</i> untuk melakukan deteksi dan pengukuran fage. Melalui metode ini bakteri <i>Klesiella pneumoniae</i> dapat diukur kemampuannya dalam menghancurkan bakteri. Isolasi bakteriofaga ini dilakukan dengan keberhasilan yang ditunjukkan melalui terbentuknya plak.
4	"Characterization and genome analysis of novel <i>Klebsiella pneumoniae</i> phage vbKpUKJ _ 2 isolated from hospital sewage water"	(Dawwam, 2024)	Metode TEM digunakan untuk mendeteksi gangguan integritas sel pada <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR setelah perlakuan kombinasi. Kombinasi minyak esensial menunjukkan efek antibakteri sinergis serta menurunkan ekspresi gen virulensi kapsul. Selain itu, TEM juga digunakan untuk karakterisasi bakteriofaga, meliputi morfologi, ukuran partikel, dan klasifikasinya.
5	"Characterization and therapeutic efficacy of phage p9676 against epidemic ST11-KL64 <i>Klebsiella pneumoniae</i> : Insights from genomic analysis and in vivo studies"	(Zhao et al., 2025)	Mikroskop Elektron Transmisi (TEM) dan analisis genom digunakan untuk mengidentifikasi bakteriofaga p9607. Setelah isolasi, TEM menunjukkan kemampuan fag dalam melisis <i>Klebsiella pneumoniae</i> tipe ST11-KL64, serta digunakan untuk karakterisasi morfologi dan klasifikasinya ke dalam kelompok yang sesuai.
6	"Isolation and identification of <i>Klebsiella pneumoniae</i> phage ΦK2046:	(Hu et al., 2025)	Pengamatan karakteristik dari bakteriofaga ΦK2046 dapat dilakukan secara langsung menggunakan metode TEM (<i>Transmission Electron Microscopy</i>). TEM memungkinkan

NO	Judul	Nama Tahun	Temuan
	optimizing its antibacterial potential in combination with chlorhexidine"		partikel fag divisualisasikan dengan resolusi yang tinggi agar analisis stuktur dapat dilakukan secara mendetail. Pada penelitian, metode TEM dilakukan untuk optimalisasi antibacterial pada kasus Klebsiella Pneumonia dengan melakukan isolasi dan identifikasi.

Isolasi *K. Pneumoniae* dilakukan dengan metode *double layer assay*. Proses isolasi fag dengan metode ini ditandai melalui pembentukan plak yaitu *clear plaque* pada media (Qodriyah *et al.*, 2025). Hal ini diperjelas oleh (Aminah *et al.*, (2025) bahwa metode *double layer assay* mendeteksi aktivitas dari bakteriofaga melalui terbentuknya plak berupa *clear plaque* pada media. Metode ini dapat menunjukkan bakteriofaga yang sifatnya litik (membunuh bakteri) dengan plak berbentuk bulat, jernih dan jelas yang menunjukkan aktivitas penghancuran bakteri. Sejumlah plak mempunyai *halo* sehingga terdapat enzim khusus yang dapat membantu penghancuran lapisan pelindung bakteri. Metode ini juga memungkinkan perhitungan titer/jumlah bakteriofaga dengan pengeneran bertingkat. Bakteriofaga ini bisa melawan bakteri *K. pneumoniae* yang resisten terhadap antibiotic sehingga bisa dijadikan alternatif. Dalam temuan lain, disebutkan bahwa metode *double layer assay* mampu menjadi alat utama dalam mendeteksi interaksi fag dengan bakteri secara visual sehingga bisa ditentukan resistensi dan sensitifitas yang terjadi. Apabila terbentuk plak maka bakteri sensitive pada fag sementara apabila tidak terbentuk plak maka menunjukkan bakteri resisten. (Li *et al.*, 2025).

Prinsip dasar dalam metode *double layer assay* untuk isolasi bakterifage dapat dilakukan dengan Menyusun lapisan agar yaitu lapisan bawah sebagai *base* sifatnya padat sementara lapisan atas (*soft*) lebih lunak yang memuat bakteri juga fag. Apabila bakteriofaga berhasil menginfeksi bakteri target yaitu *K. pneumoniae* maka terbentuklah *clear plaque* atau zona bening yang disebabkan karena lisisnya sel bakteri. Mekanisme isolasi dengan metode *double layer assay* dapat dilakukan dengan menyiapkan pleat agar Uria Bertani (LB) yang segar dan dijadikan lapisan dasar, kemudian lapisan atasnya LB 0,5% disiapkan sebagai uji agar dua lapis. Pelat agar ini kemudian dilakukan inkubasi semalaman dan dilakukan pemeriksaan plak secara visual. Plak individu selanjutnya dipilih sesuai ukuran dan morfologi sehingga bisa dilakukan karakterisasi lebih lanjut (Mirza *et al.*, 2025).

Karakterisasi bakteriofag dapat dilakukan setelah isolasi dilakukan. Karakterisasi memiliki berbagai jenis metode salah satunya TEM (*Transmission Electron Microscopy*). TEM yaitu teknik mikroskopi yang memanfaatkan berkas electron untuk melihat stuktur objek kecil dengan resolusi tinggi. Bakteriofaga mempunyai ukuran yang sangat kecil sehingga metode ini dimanfaatkan dalam mengamati bentuk juga stuktur virus dengan mendetail. Metode TEM juga diketahui mampu mengungkap gangguan integritas sel terhadap sel yang diuji dalam pengobatan (Dawwam, 2024). Pada penelitian Dawwam (2024) tersebut diungkap bahwa TEM digunakan dalam melihat morfologi dari bakteriofaga seperti dari capsid, *tail* atau ekor bentuknya pendek atau panjang dan lainnya. TEM juga bisa digunakan sebagai sarana karakterisasi dari sisi ukuran fag misalnya dari diameter kepala dan panjang ekor. Klasifikasi juga dapat ditentukan menurut bentuk misalnya fag digolongkan pada famili

tertentu *Myoviridae*, *Siphoviriae* dan lainnya. Cara kerja dari TEM yaitu menempatkan sampel fag pada grid khusus, kemudian lakukan pewarnaan negatif umumnya menggunakan logam berat. Selanjutnya ditembak menggunakan electron dimana kemudian electron mampu menembus sampel sehingga dihasilkan gambar dengan mendetail. TEM ini penting karena dapat memberi bukti visual yang langsung pada bakteriofaga.

Mikroskop Elektron Transmission Electron dan analisis genom dapat digunakan dalam identifikasi p9607 yang menjadi bakterifag. Metode TEM bisa digunakan setelah isolasi bakteriofaga p9607 dari sampel dengan menunjukkan kemampuan dalam melisiskan strain bakteri *K. pneumoniae* dengan tipe kapsul ST11-KL64. Dengan metode ini karakterisasi yang dilakukan bisa merujuk pada hasil identifikasi dan klasifikasi seperti masuk sebagai anggota kelas dan famili yang sesuai (Zhao *et al.*, 2025). Mekanisme TEM yaitu mengambil suspensi bakterifage yang telah dimurnikan pada jumlah kecil. Sampel dipilih yang kontentrasinya tinggi untuk mempermudah pengamatan. Sampel isolasi bakteri ditetaskan di *copper grid* yang berlapis film tipis kemudian dibiarkan hitungan menit sehingga partikel fag menempel di permukaan grid. Pewarnaan dilakukan terhadap sampel dengan pewarna logam berat misalnya *uranyl acetate* ataupun *phosphotungstic acid* sehingga meningkatkan kontras dan membuat struktur fag lebih jelas. Dalam hal ini, metode pewarnaan negatif tidak membuat pewarna masuk ke partikel namun menjadi pewarna latar belakang. Selanjutnya grid dikeringkan sebelum diamati menggunakan mikroskop electron transmisi. Elektron ditembakkan dengan sampel sehingga dihasilkan visual dengan resolusi tinggi. Pada isolasi dan identifikasi bakterifag Φ K2046 hasil karakterisasi menunjukkan visual morfologi yaitu bentuk capsid biasanya icosahedral, kemudian terlihat struktur ekor,, panjang dan diameter fag. Hasil TEM dapat mengidentifikasi jika fag Φ K2046 mempunyai struktur khas bakteriofaga tertentu dengan tipe morfologi yang sesuai dalam klasifikasi fag. Hal ini bisa menunjang analisis genom dalam penentuan klasifikasi juga sifat biologis yang dimiliki. Metode TEM ini mampu mengoptimalkan peran bakteriofag sebagai antibakteri, mengatasi resistensi antimikroba dan menjadi kontrol infeksi (Hu *et al.*, 2025).

Kesimpulan

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagai bakteri pathogen yang sulit diatasi dengan pengobatan akibat resisten terhadap antibiotik struktur virulensinya membutuhkan alternatif dalam membasmi bakteri tersebut. Bakteriofag dapat menjadi agen yang tepat dalam menghancurkan bakteri seperti *K. pneumoniae* dimana aktivitas fag ini dapat dideteksi setelah dilakukan isolasi seperti dengan metode *double layer assay*. Metode *double layer assay* memungkinkan deteksi bakteriofag yang ditunjukkan dari terbentuknya *clear plaque* sebagai penanda aktivitas bakteriofag yang menyebabkan dinding sel bakteri lisis. Setelah isolasi, dapat dilakukan karakterisasi bakteriofag dengan metode TEM (*Transmission Electron Microscopy*) yang dapat mengetahui visual dari fag dari sisi bentuk, ukuran, maupun struktur yang menentukan proses identifikasi, klasifikasi juga potensi penggunaan. Karakterisasi dengan TEM ini dapat memastikan jika fag yang telah diisolasi merupakan fag baru ataupun berbeda dan diklasifikasikan sesuai karakter yang didapatkan. Dengan demikian, TEM dapat mengonfirmasi jika partikel yang diisolasi merupakan bakteriofaga dengan karakter morfologi dan klasifikasi yang sesuai. Temuan ini diharapkan dapat mendukung pengembangan fag sebagai agen antibakteri dalam kasus resistensi antibiotik dan pengobatan infeksi *K. pneumoniae*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada institusi dan perpustakaan yang telah menyediakan akses terhadap berbagai sumber literatur dan database ilmiah yang digunakan dalam penyusunan kaian ini. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan, baik berupa fasilitas, masukan, maupun bantuan teknis selama proses penelusuran dan pengolahan referensi. Selain itu, penulis mengapresiasi semua pihak yang telah berkontribusi secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian literature review ini.

Daftar Pustaka

- Abbas, Rim, Chakkour, Mohamed, Zein El Dine, Hiba, Obaseki, Eseiwi Folorunsho, Obeid, Soumaya T., Jezzini, Aya, Ghssein, Ghassan, & Ezzeddine, Zeinab. (2024). General overview of *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and the role of siderophores in its pathogenicity. *Biology*, 13(2), 78.
- Advinda, L., Putri, D. H., Anhar, A., & Irdawati. (2022). Identification and Characterization of Fluorescent *Pseudomonas* Producing Active Compounds. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 4(2010), 795–804. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1144323>
- Aminah, Aminah, Trisna, Citra, Alina, Fitri, Sugianto, Putri, Amalia, Gadis, & Martiningsih, M. Atik. (2025). Isolation, Quantification, and Plaque Morphology Analysis of Lytic Bacteriophages from River Water Targeting Clinical MDR *Klebsiella pneumoniae* Using the Double-Layer Agar Method. *Jurnal Teknonakes*, 18(4), 272–281.
- Astrid, Putri, D. H., & Handayani, D. (2026). Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit (*Pseudomonas* Berfluoresen) dari Akar Pisang Buai (*Musa x paradisiaca* L.). *Biogenerasi: Jurnal Pendidikan Biologi*, 11(1), 282–289.
- Dawwam, Ghada E. (2024). *Essential oils as capsule disruptors: enhancing antibiotic efficacy against multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae*. (August). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1467460>
- Effah, Clement Yaw, Sun, Tongwen, Liu, Shaohua, & Wu, Yongjun. (2020). *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19(1), 1.
- Hu, Panjie, Sun, Yao, Zhong, Zeyong, Liu, Sichen, Zhao, Deyi, Chen, Weijun, Zhang, Ying, Ma, Zhexiao, Cao, Jianming, & Zhou, Tieli. (2025). Isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae* phage ΦK2046: optimizing its antibacterial potential in combination with chlorhexidine. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 14(1), 42.
- Irdawati, Nurfatihah, Z., Putri, D. H., Advinda, L., & Yusrizal. (2025). Aktivitas Spesifik Xilanase Bakteri Termofilik Amobil SSA2 dengan Variasi Sumber Karbon. *Jurnal Agrotek Tropika*, 13(1), 59–65.
- Li, Pei, Liu, Jianan, Guo, Genglin, Xu, Sixiang, Zheng, Xiangkuan, Wang, Zhuohao, Tian, Rui, Yu, Yanfei, Li, Quan, & Yao, Huochun. (2025). Antibacterial efficacy of a K5-specific *Klebsiella* phage in milk and investigation of phage resistance mechanisms. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2024-26089>
- Liu, S., Quek, S. Y., & Huang, K. (2023). Advanced strategies to overcome the challenges of bacteriophage-based antimicrobial treatments in food and agricultural systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(33), 12574–12598. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10408398.2023.225483>
- Mirza, Kamran Ahmad, Tchatchiashvili, Tinatini, Marquet, Mike, Nietzsche, Sandor, & Pletz, Mathias W. (2025). Characterization and genome analysis of novel *Klebsiella pneumoniae* phage vbKpUKJ _ 2 isolated from hospital sewage water. *BMC*

Microbiology, 96.

- Nuraini, F. E., Advinda, L., Irdawati, Handayani, D., Nazri, L. M., Wulandari, T., & Febrianti, L. (2026). Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit *Pseudomonas* Berfluoresen terhadap *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida Albicans*. *Biogenerasi : Jurnal Pendidikan Biologi*, 11(1), 47–53.
- Prasetyo, Angga, & Kunci, Kata. (2025). Perbandingan Antimikroba Nisin dan Bakteriofag dan Aplikasinya untuk Active Packaging di Bidang Pangan Comparison Antimicrobial Nisin and Bacteriophage and Their Applications as Active Packaging in the Food Industry. *JTPT : Jurnal Teknik Pertanian Terapan*, 2(2), 79–87.
- Qodriyah, Nur Latifatul, Meilina, Lita, & Jannah, Mirriyadhil. (2025). *Potensi bakteriofag sebagai biokontrol kasus resistensi antibiotik pada budidaya udang di indonesia potential of bacteriophages as biocontrol of antibiotic resistance cases in shrimp cultivation in indonesia*. 2(2).
- Rahmi, M., & Putri, D. H. (2020). The antimicrobial activity of DMSO as a natural extract solvent. *Serambi Biologi*, 5(2), 56–58.
- Zhao, Yapin, Wen, Yicheng, Gu, Liping, Gao, Qizhao, Li, Guicai, Zhu, Zhichen, Zhu, Jie, Chen, Liang, & Du, Hong. (2025). Characterization and therapeutic efficacy of phage p9676 against epidemic ST11-KL64 *Klebsiella pneumoniae*: Insights from genomic analysis and in vivo studies. *Microbiological Research*, 301, 128298.