



CONSTRUCTION OF *Escherichia coli* LACTOSE BIOSENSOR BY PLASMID CLONING OF GFP GENE

Vanessa Jesslyn Wijaya

Supervisor: Prof. Dr. Endah Retnaningrum, S.Si., M.Eng

ABSTRACT

Biosensors provide powerful tools for detecting biological and chemical analytes, with bacterial biosensors offering advantages in production cost, sensitivity, and versatility. *Escherichia coli*, with its well-characterized genetics and rapid growth, is widely used in biosensor development. The *lac* operon, which regulates lactose metabolism, can be exploited by coupled with *GFP*, enables the creation of lactose-responsive biosensors. This study aimed to insert the *GFP* gene into a plasmid vector under the control of the *lac* promoter to generate *E. coli* strains capable of functioning as lactose-responsive biosensors, and to evaluate the effectiveness of blue–white colony screening and restriction mapping techniques in enhancing the accuracy and reliability of recombinant plasmid construction. The cloning workflow involved PCR amplification, restriction digestion, ligation, and transformation. Verification of recombinant constructs was performed using blue–white colony screening, fluorescence microscopy, and restriction mapping. The results confirmed the successful insertion of the *GFP* gene into the plasmid vector, as evidenced by the formation of viable *E. coli* colonies exhibiting both white and green fluorescence phenotypes. Blue–white colony screening provided a rapid and effective means of identifying recombinant colonies, while restriction mapping further validated the integration of the plasmid construct. Collectively, these findings demonstrate the feasibility of constructing GFP-based lactose-responsive biosensors in *E. coli*, thereby supporting future applications in biosensing and molecular diagnostics.

Key words: Cloning, *Escherichia coli*, GFP, Plasmid, PCR



PENGEMBANGAN BIOSENSOR LAKTOSA BERBASIS *Escherichia coli* MELALUI KLONING GEN GFP PADA VEKTOR PLASMID

Vanessa Jesslyn Wijaya

Dosen Pembimbing Skripsi: Prof. Dr. Endah Retnaningrum, S.Si., M.Eng

INTISARI

Biosensor merupakan alat yang efektif untuk mendeteksi analit biologis maupun kimia, dengan biosensor berbasis bakteri menawarkan keunggulan dalam biaya produksi, sensitivitas, dan fleksibilitas. *Escherichia coli*, yang memiliki karakter genetik yang telah dipahami dengan baik serta pertumbuhan yang cepat, banyak digunakan dalam pengembangan biosensor. *Lac* operon, yang mengatur metabolisme laktosa, dapat dimanfaatkan dengan dikombinasikan bersama gen *GFP* untuk menghasilkan biosensor yang responsif terhadap laktosa. Penelitian ini bertujuan untuk menyisipkan gen *GFP* ke dalam vektor plasmid di bawah kendali promoter *lac* untuk menghasilkan strain *E. coli* yang mampu berfungsi sebagai biosensor laktosa, serta mengevaluasi efektivitas teknik *blue–white colony screening* dan *restriction mapping* dalam meningkatkan akurasi dan reliabilitas konstruksi plasmid rekombinan. Proses kloning mencakup amplifikasi PCR, pemotongan enzim restriksi, ligasi, dan transformasi. Verifikasi konstruksi rekombinan dilakukan melalui *blue–white colony screening*, mikroskopi fluoresensi, dan *restriction mapping*. Hasil penelitian mengonfirmasi keberhasilan penyisipan gen *GFP* ke dalam vektor plasmid, yang ditunjukkan dengan terbentuknya koloni *E. coli* dengan fenotip fluoresensi putih dan hijau. Teknik *blue–white colony screening* terbukti menjadi metode cepat dan efektif untuk mengidentifikasi koloni rekombinan, sementara *restriction mapping* memberikan validasi tambahan terhadap integrasi konstruksi plasmid. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan kelayakan konstruksi biosensor laktosa berbasis *GFP* pada *E. coli*, sehingga mendukung potensi penerapannya dalam bidang *biosensing* dan diagnostik molekuler.

Kata kunci: *Escherichia coli*, GFP, Kloning, Plasmid, PCR