

Profil asid amino madu *Heterotrigona itama* daripada sumber bunga berbeza dan analisis kimometrik

(Amino acid profiling of *Heterotrigona itama* honey from different floral sources and chemometrics analysis)

Sharina Shamsudin, Jinap Selamat, Maimunah Sanny,
Nuzul Noorahya Jambari, Shamsul Bahari Abd. Razak dan
Alfi Khatib

Pengenalan

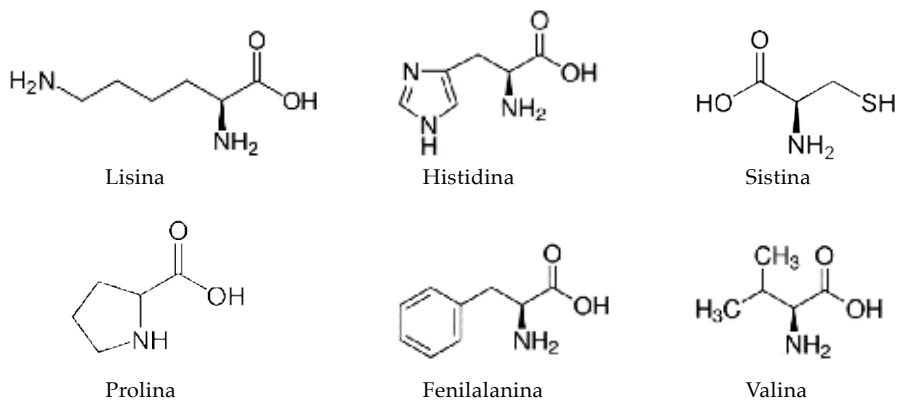
Madu kelulut adalah sebatian semula jadi yang dihasilkan oleh lebah kelulut daripada nektar bunga (cecair yang kaya dengan gula yang dirembeskan oleh bunga) atau cecair daripada pokok (*plant sap*). Terdapat pelbagai jenis madu kelulut yang boleh diperoleh di pasaran bergantung kepada sumber bunga yang digunakan oleh lebah kelulut untuk menghasilkan madu. Madu kelulut dilaporkan mempunyai nilai pemakanan dan perubatan yang lebih tinggi berbanding dengan madu *Apis mellifera* (lebah). Namun, pengeluaran madu kelulut adalah terhad disebabkan kuantiti penghasilan yang rendah oleh lebah kelulut jika dibandingkan dengan pengeluaran madu oleh lebah *Apis*. Ini menyebabkan madu kelulut dijual dengan harga yang lebih tinggi di pasaran. Keadaan ini mungkin menyebabkan madu kelulut menjadi sasaran untuk dijadikan madu tiruan.

Di Malaysia, sebanyak 77% madu yang dijual di pasaran adalah madu tiruan. Kebiasaannya, madu tiruan dihasilkan dengan mencampurkan madu tulen/asli dengan gula seperti fruktosa, glukosa dan sukrosa atau mencampurkannya dengan madu berkualiti rendah. Secara umumnya, madu tiruan mempunyai nilai nutrisi yang rendah dan boleh menyebabkan kesan buruk (obesiti, meningkatkan aras glukosa dalam darah dan toksik) kepada kesihatan manusia. Pada masa kini, permintaan terhadap madu kelulut yang tulen/asli dan berkualiti tinggi semakin meningkat. Ketulenan madu boleh ditentukan oleh sifat fizikokimia madu dan kualiti madu boleh dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sumber bunga, geografi (lokasi) dan entomologi (spesies). Oleh itu, pengesahan sumber bunga adalah penting untuk menentukan kualiti dan ketulenan madu. Kualiti dan sumber bunga madu dapat mempengaruhi harga pasaran dan penerimaan pengguna.

Analisis debunga atau dikenali sebagai kaedah *melissopalynological* telah digunakan secara meluas untuk menentukan sumber madu dan dilakukan melalui pengenalanpastian debunga yang hadir dalam madu. Walau bagaimanapun, teknik ini sangat memakan masa, memenatkan dan bergantung pada ketersediaan pangkalan data debunga

yang komprehensif serta memerlukan seorang penganalisis yang terlatih dengan pengetahuan yang baik tentang morfologi debunga. Dalam kajian terdahulu yang melibatkan madu kelulut, pelbagai parameter telah digunakan untuk membezakan jenis madu kelulut mengikut sumber bunga dan entomologi seperti ciri-ciri komposisi, sifat fizikokimia dan antioksidan, sifat kimia dan kandungan mineral serta kombinasi kandungan sensori, fizikokimia dan gula. Walau bagaimanapun, setakat ini tidak ada kajian yang menggunakan asid amino sebagai parameter dalam mengklasifikasikan madu kelulut berdasarkan sumber bunga.

Madu mengandungi kira-kira 1.0% (w/w) asid amino. Asid amino adalah sebatian organik yang mempunyai kumpulan berfungsi amina ($-NH_2$) dan asid karboksilik ($-COOH$), dengan rantai sisi yang khusus untuk setiap asid amino. Dalam madu, asid amino diperoleh terutamanya daripada cecair kelenjar air liur dan *pharynx* (bahagian saluran pencernaan terletak di belakang mulut) lebah kelulut serta nektar bunga. Walau bagaimanapun, debunga dilaporkan sebagai sumber utama asid amino dalam madu. Terdapat pelbagai jenis asid amino yang dikesan dalam madu seperti alanina, asparagina, prolina, histidina, fenilalanina, arginina, valina, tirosina, sistina, lisina dan lain-lain. *Rajah 1* menunjukkan struktur kimia beberapa asid amino. Oleh itu, asid amino ini boleh digunakan sebagai parameter berguna untuk mengklasifikasikan madu berdasarkan sumber bunga.



Rajah 1. Struktur kimia beberapa asid amino dalam madu

Selain itu, asid amino penting untuk pertumbuhan, reproduksi dan kesihatan manusia. Tubuh manusia memerlukan 20 jenis asid amino yang berbeza untuk mengekalkan kesihatan dan fungsi badan yang baik. Sembilan (valina, lisina, treonina, metionina, histidina, leusina, isoleusina, fenilalanina dan triptofana) daripada asid-asid amino ini tidak boleh dihasilkan oleh tubuh manusia yang perlu diperoleh melalui diet harian dan dikenali sebagai asid amino perlu (*essential amino acids*). Setiap asid amino mempunyai peranan yang berbeza dalam

sistem badan manusia. Sebagai contoh, lisina penting untuk pembentukan otot dan mengekalkan kekuatan tulang. Manakala, histidina membantu pertumbuhan, pembentukan sel-sel darah dan membaiki tisu-tisu badan. Oleh itu, madu kelulut boleh dijadikan sebagai sumber semula jadi asid amino perlu yang boleh diambil oleh manusia dalam diet harian.

Pada masa kini, penentuan sumber bunga dan geografi madu dicapai menggunakan kaedah kimometrik yang boleh menganalisis data kompleks, mengekstrak maklumat yang berguna dan memudahkan analisis. Di samping itu, sokongan daripada teknik analisis data statistik dan kuantitatif moden diperlukan untuk mendapatkan hasil yang tepat dan boleh dipercayai. Dengan menggunakan kaedah ini, komponen yang sesuai dapat dianalisis, diklasifikasi dan dikenal pasti. Dalam kajian ini, madu kelulut daripada tiga sumber bunga berbeza (akasia, gelam dan belimbing) dikaji, di mana madu *Apis mellifera* (lebah) digunakan sebagai perbandingan. Tujuan kajian ini adalah untuk menentukan asid amino bagi setiap madu yang dikaji dan mengesahkan sumber bunga sampel madu tersebut mengikut kandungan asid amino menggunakan teknik kimometrik.

Penyediaan sampel madu kelulut

Sampel madu kelulut *Heterotrigona itama* diperolehi dari tiga ladang lebah kelulut dari Johor, Pahang dan Melaka. Madu kelulut daripada tiga sumber bunga yang berlainan digunakan, iaitu akasia (*Acacia mangium*), gelam (*Meleleuca cajuputi* Powell) dan buah belimbing (*Averrhoa carambola* L). Madu *Apis mellifera* (lebah) daripada akasia digunakan sebagai perbandingan dalam kajian ini kerana madu *Apis mellifera* merupakan madu komersial yang digunakan di seluruh dunia dan mudah diperolehi. Semua sampel madu melalui proses dehumidifikasi (proses penyingkiran kandungan lembapan dalam madu) pada suhu 40 °C untuk mengurangkan kandungan kelembapan sekitar 13 – 15 mg/100 g madu. Sampel disimpan di dalam bekas plastik (gred makanan) yang kedap udara dan disimpan pada suhu 4 ± 2 °C sehingga analisis dijalankan.

Pengekstrakan asid amino daripada madu kelulut

Sebelum analisis kromatografi gas dilaksanakan, asid amino diekstrak daripada sampel madu menggunakan kit analisis asid amino (EZ:faast - Phenomenex). Kira-kira 100 mg madu dilarutkan dalam 500 µL air suling dan campuran dihomogenkan dengan menggunakan pengadun *vortex*. Sebanyak 30 µL larutan madu diletakkan di dalam botol kaca (*vial*) dan 100 µL norvalin (*internal standard*) ditambah dan diaduk menggunakan *vortex* (lima saat). Kemudian tip yang mengandungi *sorbent particles* disambungkan kepada picagari dan larutan madu disedut sehingga semua larutan madu melepasi *sorbent particles* dan masuk ke dalam picagari. Seterusnya, 200 µL *washing solution*

(n-propanol) ditambah ke dalam botol kaca dan disedut ke dalam picagari menggunakan tip yang sama. Tip ditanggalkan daripada picagari dan larutan di dalam picagari dibuang. Setelah itu, tip disambung semula pada picagari dan 200 μL larutan *eluting medium* (natrium hidroksida + n-propanal) ditambah ke dalam botol kaca dan disedut sehingga sama aras dengan *sorbent particles* dan seterusnya larutan dan *sorbent particles* dikeluarkan daripada tip ke dalam botol kaca dengan menekan ombok picagari. Selepas itu, 50 μL kloroform ditambah dan campuran diaduk menggunakan *vortex* selama lima saat dan dibiarkan selama satu minit sehingga dua lapisan terbentuk. Kemudian 100 μL iso-oktana ditambah dan campuran diaduk menggunakan *vortex* selama lima saat dan dibiarkan selama satu minit sehingga dua lapisan terbentuk. Lapisan atas diambil dan dimasukkan ke dalam botol kaca yang lain sebelum disuntik ke dalam sistem kromatografi gas.

Analisis kromatografi gas

Kandungan asid amino dalam madu ditentukan menggunakan peralatan kromatografi gas Agilent 7890A GC-FID.

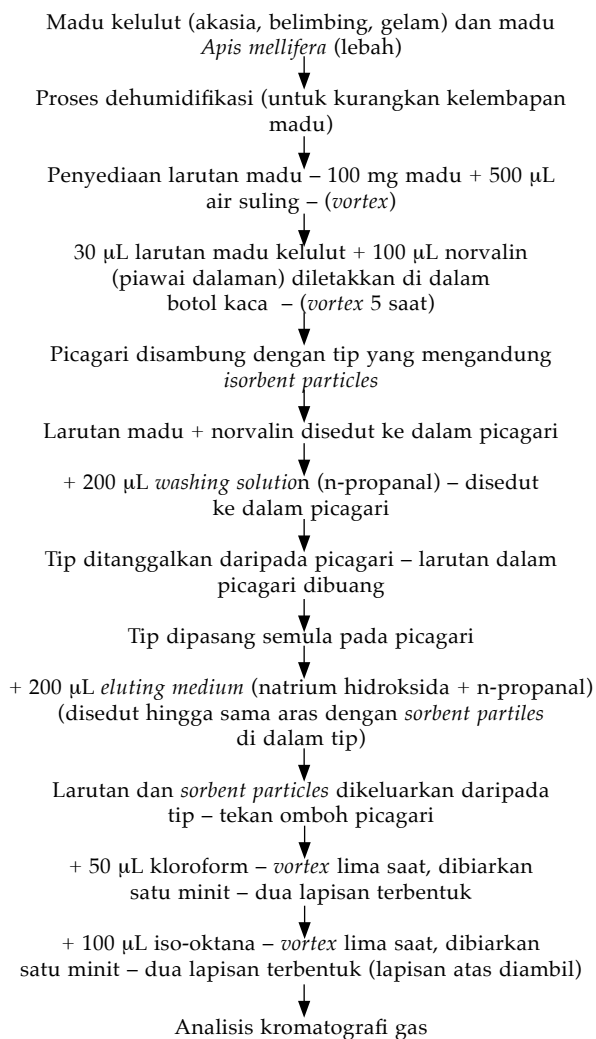
Pemisahan asid amino menggunakan kolum Zebron ZB-AAA (10 m \times 0.25 mm id). Kondisi GC-FID (*Gas Chromatography – Flame Ionization Detection*) ditetapkan seperti berikut: suhu pengesanan FID 320 $^{\circ}\text{C}$, suhu suntikan 250 $^{\circ}\text{C}$ dan suhu oven diprogramkan pada 110 $^{\circ}\text{C}$ (dinaikkan sehingga 320 $^{\circ}\text{C}$ pada kadar 32 $^{\circ}\text{C}/\text{minit}$). Sampel disuntik sebanyak 1 μL dan nisbah split ialah 1:15. Gas pembawa ialah helium pada tekanan 3 kPa/minit (kadar aliran 1.5 mL/minit). Pengenalpastian puncak kromatografi dilakukan dengan membandingkan masa penahanan asid amino piawai dan komponen dalam sampel. Kandungan asid amino dikira menggunakan graf kalibrasi yang diperolehi daripada lima kepekatan (50 – 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$) campuran asid amino piawai. Penyediaan sampel dan kaedah analisis kandungan asid amino dalam madu kelulut diringkaskan seperti dalam *Carta alir 1*.

Analisis kimometrik

Perisian SIMCA Versi 13.0 digunakan untuk menilai hubungan antara asid amino dengan sumber bunga dan seterusnya mengenal pasti penanda kimia bagi setiap jenis madu yang dikaji. Langkah-langkah analisis kimometrik diringkaskan seperti dalam *Carta alir 2*.

Kandungan asid amino dalam madu kelulut

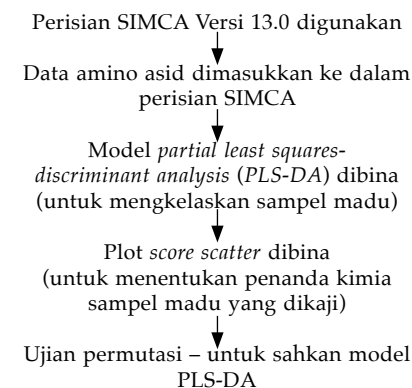
Profil asid amino dan kandungannya dalam madu kelulut (akasia, belimbing dan gelam) dan madu *Apis* ditunjukkan seperti dalam *Jadual 1*. Berdasarkan *Jadual 1*, madu akasia mengandungi bilangan asid amino yang paling banyak berbanding dengan madu gelam, madu belimbing dan *Apis*. Manakala madu



Carta alir 1. Penyediaan sampel dan kaedah analisis kandungan asid amino di dalam madu kelulut

belimbing mengandungi bilangan asid amino yang paling sedikit. Walau bagaimanapun, kandungan setiap jenis asid amino adalah berbeza-beza bergantung pada sumber bunga setiap jenis madu. Isoleusina tidak dikesan dalam semua sampel madu kelulut yang dikaji. Manakala asid α -amino adipik hanya dikesan dalam madu akasia. Begitu juga valina dan sistina hanya dikesan dalam madu belimbing. Dalam madu *Apis*, hanya dua asid amino tidak dikesan iaitu allo-isoleusina dan sistina.

Jika dibandingkan kandungan asid amino antara madu kelulut dengan madu *Apis*, madu kelulut mengandungi fenilalanina (50.04 – 561.10 mg/kg) paling tinggi berbanding dengan madu *Apis* (68.51 mg/kg) (Rajah 2). Sampel daripada madu kelulut, madu belimbing (561.10 mg/kg) mengandungi



Carta alir 2. Langkah-langkah analisis kimometrik data asid amino

Jadual 1. Profil asid amino dan kepekatannya dalam madu kelulut dan madu *Apis mellifera* (lebah)

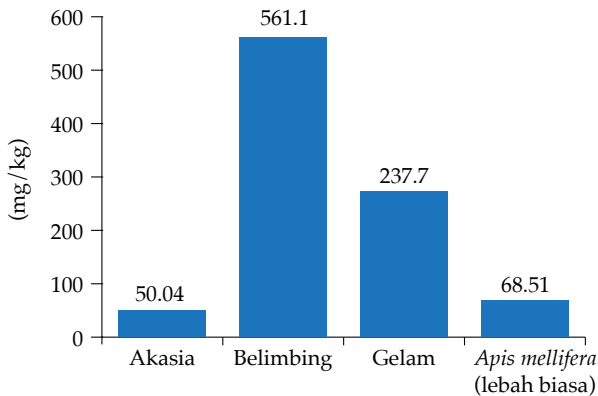
Asid amino	Jenis madu (mg/kg)			
	Akasia	Belimbing	Gelam	<i>Apis mellifera</i>
Alanina	35.04 ± 2.03 ^c	46.00 ± 2.06 ^a	35.96 ± 2.14 ^c	41.34 ± 0.34
Allo-isoleusina	7.03 ± 1.31 ^a	6.19 ± 0.13 ^a	6.38 ± 0.03 ^a	–
Serina	13.60 ± 2.46 ^b	37.75 ± 5.14 ^a	19.07 ± 0.83 ^b	19.21 ± 11.45 ^b
Prolina	16.23 ± 5.68 ^d	33.01 ± 6.20 ^c	48.91 ± 1.44 ^b	145.98 ± 3.39 ^a
3-hidroksiprolina	4.83 ± 3.01 ^c	75.53 ± 5.47 ^a	29.63 ± 2.28 ^b	6.34 ± 0.77 ^c
Asid glutamik	29.02 ± 4.27 ^b	37.29 ± 4.15 ^a	29.77 ± 2.31 ^b	23.68 ± 0.59 ^c
Asid α-amino adipik	4.96 ± 1.00 ^{ab}	–	–	7.69 ± 5.13 ^a
Glutamina	42.15 ± 2.73 ^b	24.75 ± 4.11 ^c	29.32 ± 1.19 ^c	134.09 ± 10.81 ^a
Ornitin	11.26 ± 0.32 ^{ab}	12.15 ± 0.87 ^a	11.13 ± 0.50 ^b	10.93 ± 0.59 ^b
Tirosina	24.92 ± 0.84 ^b	23.31 ± 2.63 ^b	19.57 ± 1.97 ^c	29.63 ± 0.66 ^a
Sistina	34.67 ± 2.09	–	33.01 ± 2.62 ^a	–
Asid amino perlu				
Valina	1.24 ± 0.77 ^b	–	5.07 ± 1.65 ^a	6.06 ± 1.92 ^a
Leusina	24.82 ± 0.64 ^c	7.55 ± 0.20 ^d	44.50 ± 4.44 ^a	32.91 ± 0.26 ^b
Isoleusina	–	–	–	7.06 ± 0.84 ^a
Treonina	4.75 ± 3.67 ^b	3.85 ± 1.32 ^b	7.07 ± 3.21 ^{ab}	12.08 ± 4.25 ^a
Metionina	16.71 ± 0.21 ^c	22.62 ± 0.56 ^a	19.49 ± 0.19 ^b	21.40 ± 2.14 ^a
Fenilalanina	50.04 ± 4.76 ^c	561.10 ± 37.59 ^a	237.37 ± 13.73 ^b	68.51 ± 0.35 ^c
Lisina	15.46 ± 1.04 ^b	15.17 ± 0.44 ^b	14.67 ± 0.04 ^b	21.94 ± 0.68 ^a
Histidina	23.76 ± 4.09 ^b	20.27 ± 2.08 ^{bc}	17.82 ± 0.07 ^c	30.03 ± 1.00 ^a
Triptofan	20.32 ± 1.25 ^a	20.46 ± 3.16 ^a	19.05 ± 0.38 ^a	20.58 ± 2.27 ^a
Jumlah	380.82 ± 19.36 ^c	947.01 ± 48.42 ^a	627.78 ± 21.20 ^b	639.47 ± 13.49 ^b

Bacaan asid amino adalah purata bagi empat replikasi ± sisihan piawai.

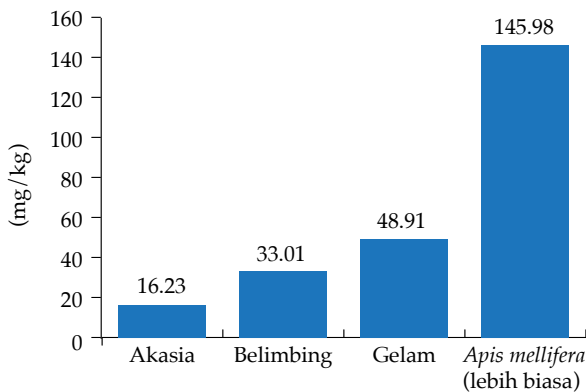
Nilai purata dengan abjad yang berbeza dalam baris yang sama menunjukkan perbezaan signifikan ($p < 0.05$) antara madu dari sumber bunga berbeza.

fenilalanina yang paling tinggi manakala madu akasia (50.04 mg/kg) paling rendah. Perbezaan yang ketara juga diperhatikan dalam kandungan fenilalanina antara sampel madu kelulut dari sumber bunga yang berlainan. Variasi kandungan fenilalanina mungkin disebabkan sumber bunga yang berlainan. Banyak kajian telah menunjukkan dan mengesahkan bahawa sumber bunga dan lokasi boleh mempengaruhi jenis dan kandungan asid amino dalam madu.

Prolina merupakan asid amino utama dalam madu *Apis* dan ia dikesan paling tinggi dalam madu *Apis* (145.98 mg/kg) berbanding dengan sampel madu kelulut (16.23 – 48.91 mg/kg) (*Rajah 3*). Perbezaan kandungan prolina mungkin boleh dikaitkan dengan spesies lebah yang terlibat dalam pengeluaran madu. Kajian lepas melaporkan bahawa prolina berasal daripada rembesan lebah dan nektar bunga yang digunakan untuk membuat madu.



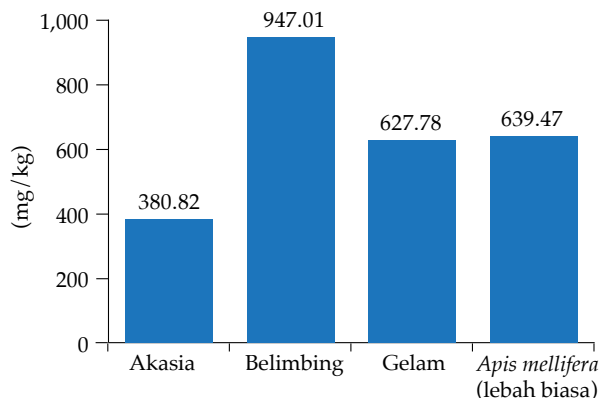
Rajah 2. Kandungan fenilalanina dalam madu kelulut dari sumber bunga berbeza dan madu *Apis mellifera* (lebah)



Rajah 3. Kandungan prolina dalam madu kelulut daripada sumber bunga berbeza dan madu *Apis mellifera* (lebah)

Jumlah kandungan asid amino (Rajah 4) dalam sampel madu berbeza-beza antara 380.82 mg/kg dan 947.01 mg/kg. Antara tiga jenis madu kelulut yang dikaji, madu belimbing mempunyai kandungan asid amino tertinggi iaitu 947.01 mg/kg, manakala madu akasia mempunyai kandungan terendah iaitu 380.82 mg/kg. Perbezaan yang ketara juga diperhatikan antara sampel madu kelulut dari segi jumlah kandungan asid amino. Apabila dibandingkan dengan madu *Apis*, madu gelam dan akasia menunjukkan jumlah kandungan asid amino yang lebih rendah. Keputusan ini menunjukkan bahawa sumber bunga boleh mempengaruhi komposisi asid amino dalam madu.

Asid amino yang dikesan dalam madu kelulut dan madu *Apis* digunakan sebagai pemboleh ubah dalam analisis kimometrik untuk



Rajah 4. Jumlah asid amino dalam madu kelulut dari sumber bunga berbeza dan madu *Apis mellifera* (lebah)

mengklasifikasikan sampel madu yang dikaji mengikut sumber bunga serta mengenal pasti kemungkinan penanda kimia yang membezakannya.

Hasil analisis kimometrik

Analisis kimometrik dilakukan untuk menentukan hubungan antara kandungan asid amino dan sumber bunga. Model *partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA)* dibina untuk mengelaskan sampel-sampel madu mengikut sumber bunga berdasarkan kandungan asid amino. Keputusan analisis menunjukkan bahawa madu kelulut berbeza sepenuhnya daripada madu *Apis mellifera*. Ini mungkin disebabkan oleh kandungan asid amino yang berbeza dalam madu kelulut dan madu *Apis*. Antara tiga sampel madu kelulut yang dikaji, perbezaan yang jelas dapat diperhatikan antara madu belimbing dengan madu gelam dan akasia. Walau bagaimanapun, tiada perbezaan yang jelas antara madu gelam dan akasia. Ini mungkin disebabkan oleh pertindihan sebahagian asid amino antara kedua-dua madu. Seterusnya plot *score scatter* dibina untuk menentukan penanda kimia setiap sampel madu yang dikaji. Sistina dikenal pasti sebagai penanda kimia untuk madu akasia dan gelam, fenilalanina dan 3-hidroksiprolina untuk madu belimbing dan prolina untuk madu *Apis*. Ujian permutasi menunjukkan model *PLS-DA* yang digunakan dalam kajian ini adalah sah.

Kesimpulan

Sebagai kesimpulan, madu dari sumber bunga yang berbeza mengandungi kandungan asid amino yang berbeza. Madu kelulut mengandungi fenilalanina sebagai asid amino utama, berbeza di dalam madu madu *Apis* (lebah) yang mana prolina merupakan asid amino utama. Selain itu, pengelasan madu dari sumber bunga berbeza berdasarkan asid amino berjaya dilakukan menggunakan kaedah kimometrik. Ini membuktikan asid amino boleh digunakan sebagai penanda kimia untuk pengesahan sumber bunga madu. Sistina dikenal pasti sebagai penanda kimia untuk madu akasia dan gelam, fenilalanina dan 3-hidroksiprolina untuk madu belimbing dan prolina untuk madu *Apis mellifera*.

Penghargaan

Penyelidikan ini dibiayai oleh Kementerian Pelajaran Malaysia (MOE) (UPM/700-2/1/FRGS/MRSA/5524985). Pengarang juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Universiti Putra Malaysia (UPM) dan Fakulti Sains dan Teknologi Makanan, UPM untuk kemudahan yang diberikan.

Bibliografi

- Kamaruddin, M.Y., Joesima, H. dan Mohd Nuruddin, A.M. (2006). *1stInternational Conference on the Medicinal Uses of Honey*, Universiti Sains Malaysia (USM) Kota Bharu Kelantan
- Kaškonien, E.V. dan Venskutonis, P.R. (2010). Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: A review. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety* 9: 620 – 634
- Nozal, M.J., Bernal, J.L., Toribio, M.L., Diego, J.C. dan Ruiz, A. (2004). Rapid and sensitive method for determining free amino acids in honey by gas chromatography with flame ionization or mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1047: 137 – 146
- Razali, M., Zainal, Z., Maulidiani, M., Shaari, K., Zamri, Z., Mohd Idrus, M., Khatib, A., Abas, F., Ling, Y.S. dan Rui, L.L. (2018). Classification of raw stingless bee honeys by bee species origins using the NMR-andLC-MS-Based metabolomics approach. *Molecules* 23: 2160
- Samat, S., Enchang, F.K., Razak, A.A., Hussein, F.N. dan Ismail, W.I.W. (2018). Adulterated honey consumption can induce obesity, increase blood glucose level and demonstrate toxicity effects. *Sains Malaysiana* 47(2): 353 – 365
- Sun, Z., Zhao, L., Cheng, N., Xue, X., Wu, L., Zheng, J. dan Cao, W. (2017). Identification of botanical origin of Chinese unifloral honeys by free amino acid profiles and chemometric methods. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 7 (5): 317 – 323

Ringkasan

Dalam kajian ini, profil asid amino madu dikaji dan sumber bunga dikenal pasti. Tiga jenis madu kelulut (akasia, gelam dan belimbing) dianalisis dan dibandingkan dengan madu *Apis mellifera*. Hasil kajian menunjukkan bahawa sampel madu daripada sumber bunga yang berbeza mempunyai kandungan asid amino yang berbeza. Seterusnya, kandungan asid amino digunakan dalam analisis kimometrik untuk menentukan hubungan antara kandungan asid amino dan sumber bunga madu. Keputusan analisis kimometrik mendedahkan bahawa madu kelulut berbeza sepenuhnya daripada madu *Apis mellifera*. Selain itu, perbezaan yang jelas antara sampel madu kelulut juga diperhatikan. Asid amino spesifik yang terlibat dalam perbezaan madu ialah sistina untuk akasia dan gelam, fenilalanina serta 3-hidroksiprolina untuk belimbing dan prolina untuk madu *Apis mellifera*.

Summary

In this study, the profile of honey amino acids was investigated, and their floral sources were identified. Three types of stingless bee honey (acacia, gelam and starfruit) were analysed and compared with *Apis mellifera* honey. The results show that honey samples from different floral sources have different amino acid content. Then, the amino acid content was used in the chemometrics analysis to determine the relationship between the amino acid content and the floral source of honey. The chemometrics results revealed that the stingless bee honey was completely different from the *Apis mellifera* honey. In addition, a clear difference between the stingless bee honey samples was also observed. Specific amino acids involved in honey differentiation are cysteine; for acacia and gelam, phenylalanine and 3-hydroxyproline; for starfruit and proline; for *Apis mellifera* honey.

Pengarang

Sharina Shamsudin
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM
43400 Serdang, Selangor
E-mel: sharina@mardi.gov.my

Jinap Selamat, Maimunah Sanny Nuzul Noorahya Jambari
Fakulti Sains dan Teknologi Makanan (FSTM)
Universiti Putra Malaysia (UPM), 43400 Sedang, Selangor

Shamsul Bahari Abd. Razak
Pusat Pengajian Sains dan Teknologi Makanan
Universiti Malaysia Terengganu (UMT)
21030 Kuala Terengganu, Terengganu

Alfi Khatib
Kuliah Farmasi
Universiti Islam Antarabangsa Malaysia (UIAM)
Kampus Kuantan, Pahang