

## Kajian ketoksikan pada tikus *Sprague-Dawley* yang dirawat dengan ekstrak rizom *Kaempferia parviflora*

(Toxicity study in *Sprague-Dawley* rats treated with *Kaempferia parviflora* rhizome extract)

Zuraida Ab Rahman, Ayu Nazreena Othman, Chandradevan Machap, Shazwan Abd Shukor, Nur Syafiqah Suraya Razali dan Fazilatun Abdul Malek

### Pengenalan

*Kaempferia parviflora* (KP) merupakan sejenis herba daripada keluarga Zingiberaceae yang sering digunakan untuk tujuan perubatan. Spesies ini dikenali sebagai kunyit hitam di Malaysia dan *Krachai-dam* di Thailand. Selain Malaysia dan Thailand, KP juga tumbuh di dalam hutan di kawasan tropika seperti Sumatra dan kepulauan Borneo. Rizom KP telah lama digunakan secara tradisional bagi merawat pelbagai jenis penyakit. Beberapa kajian farmakologi menunjukkan bahawa KP mempunyai bahan aktif yang bermanfaat. Ekstrak KP didapati mengandungi bahan aktif utama seperti flavonoid dan glikosida flavonoid yang tinggi. Sebatian flavonoid semula jadi yang terdapat dalam KP adalah daripada kumpulan *methoxyl* seperti *3,5,7-trimethoxyflavone*; *3,5,7,4'-tetramethoxyflavone*; *5,7-dimethoxyflavone*; *3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone* dan *5,7,4'-trimethoxyflavone*. Bahan aktif ini bertindak sebagai antialahan, antikeradangan, antimutasi, antikemurungan, antimikrob, antikanser, aphrodisiak dan antiobesiti. Kajian toksikologi terdahulu menunjukkan bahawa KP tidak mempunyai kesan terhadap hemoglobin, sel darah putih, jumlah pembahagian sel serta fungsi buah pinggang setelah ekstrak diberi selama 60 hari kepada tikus.

Susulan pengeluaran produk berasaskan KP oleh MARDI, ekstrak KP telah digunakan secara meluas sebagai sumber makanan tambahan dan suplemen kesihatan. Sehingga kini, masih tiada laporan atau aduan yang dibuat oleh pengguna mengenai produk yang dihasilkan oleh MARDI dengan kerjasama Syarikat Black G Sdn. Bhd. Ekstrak KP yang dihasilkan daripada kajian di MARDI mempunyai pelbagai manfaat dalam meningkatkan kesihatan dan kesejahteraan. Kajian ketoksikan ekstrak KP yang berasaskan air terhadap tikus *Sprague-Dawley* telah dijalankan pada tahun 2016 bagi menyokong penggunaan produk berasaskan ekstrak KP ini. Dana bagi kajian ini telah diperolehi daripada projek kolaborasi antara MARDI dan Black G Sdn. Bhd.

### **Keputusan kajian ketoksikan**

Toksikologi berasal daripada bahasa Yunani yang bermaksud beracun. Ia merupakan salah satu cabang biologi, kimia dan perubatan yang mengkaji kesan sampingan kimia terhadap sesuatu organisma termasuklah kajian simptom, mekanisme, rawatan dan pengesanan keracunan terutamanya terhadap manusia. Ketoksikan berpunca daripada pendedahan kepada bahan kimia atau bahan asing pada dos yang tertentu yang biasanya dos tinggi. Bahan tersebut bertindak balas dan berkembang melalui pendedahan dan metabolisme. Proses ini akan mewujudkan interaksi bersama dengan sel makromolekul pada organisma.

Jumlah atau kuantiti kemasukan bahan kimia ke dalam badan organisma memainkan peranan yang penting dalam penentuan tahap ketoksikan. Dengan itu, kajian ketoksikan terhadap sesuatu produk makanan dan kesihatan adalah mustahak bagi mengetahui akan keselamatannya sebelum dikomersialkan. Tahap ketoksikan bergantung kepada dos yang diambil seperti yang dilaporkan oleh Paracelsus pada 500 tahun yang lalu. Paracelsus merupakan individu pertama yang mengenal pasti bahawa terdapat bahan kimia tertentu yang bertanggungjawab kepada ketoksikan yang berlaku pada haiwan dan tumbuhan. Beliau juga menyatakan bahawa semua bahan kimia atau bahan asing boleh bersifat toksik. Aras atau dos bahan tersebut sahaja yang membezakan sama ada ia bersifat toksik atau tidak terhadap sesuatu organisma. Oleh itu, kajian ketoksikan adalah penting bagi mencadangkan kaedah tindakan atau mekanisme yang perlu diambil apabila terdapat kesan toksik yang juga dapat membantu dalam menetapkan jumlah tindak balas dos yang sesuai bagi sesuatu eksperimen yang akan dijalankan, seterusnya dapat menentukan jumlah kuantiti selamat yang diperlukan oleh organisma.

### **Kaedah kajian ketoksikan dan dos ekstrak rizom KP**

KP ditanam di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, MARDI (*Gambar 1*). Rizom KP yang berumur 10 bulan (*Gambar 2*) dipotong, dikeringkan, dimasak sehingga mendidih dan melalui proses pengeringan semburan (*spray drying*) untuk dijadikan ekstrak. Ekstrak (*Gambar 3*) tersebut kemudiannya disimpan pada suhu bilik dan digunakan dalam kajian ketoksikan.

Bagi kajian ketoksikan subakut, sebanyak 18 ekor tikus (tiga jantan dan 15 betina) *Sprague-Dawley* (berusia tujuh minggu) telah dibahagikan secara rawak kepada tiga kumpulan iaitu enam ekor tikus bagi setiap kumpulan. Cecair ekstrak KP (ekstrak dilarut di dalam air suling) diberikan kepada setiap tikus melalui kaedah *oral gavage* setiap hari selama 28 hari. Kumpulan kajian adalah seperti yang berikut:

Kumpulan 1: Kumpulan kawalan (diberikan air suling)

Kumpulan 2: Dos ekstrak KP (950 mg/kg) (dos rendah)

Kumpulan 3: Dos ekstrak KP (1,500 mg/kg) (dos tinggi)

Pemerhatian utama dalam kajian ini yang berkaitan dengan penilaian. Kajian toksikologi subakut ekstrak KP adalah mengikut Garis Panduan Ujian OECD/OCDE 407 (*Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disrupting Chemicals*). Kajian ini memberi fokus terhadap organ pembiakan testis dan organ *visceral* tikus iaitu hati dan buah pinggang. Berat badan dan keadaan fizikal tikus juga dipantau sepanjang eksperimen untuk mengetahui jika terdapat tanda-tanda ketoksikan yang berlaku.



Gambar 1. Tanaman kunyit hitam



Gambar 2. Rizom yang berumur 10 bulan



Gambar 3. Ekstrak KP yang diproses melalui pendidihan dan pengeringan semburan

### Analisis histopatologi

Pada hari ke-14 dan 28, sampel testis, buah pinggang dan hati tikus telah diambil bagi menjalankan analisis histopatologi. Ketebalan epitelium seminiferus testis diambil dan direkodkan. Cebisan kecil sampel tisu daripada buah pinggang dan hati tikus telah diproses menggunakan alat pemproses tisu automatik (Leica TP1020). Tisu tersebut kemudian diubah ketebalannya kepada 5  $\mu$ M dengan menggunakan *rotary microtome* dan dikeringkan selama satu malam dengan menggunakan ketuhar pada suhu 37 °C. Seterusnya, bahagian tisu yang telah dikeringkan diwarnakan dengan cecair *hematoxylin* dan *eosin* (H&E) sebelum diperiksa di bawah mikroskop untuk mengesan tanda-tanda ketoksikan.

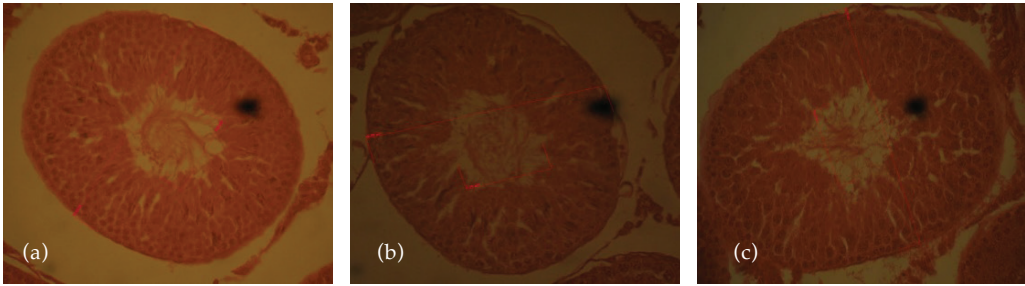
### **Analisis hematologi**

Sebelum proses pengakhiran eksperimen, makanan bagi tikus kajian telah dikeluarkan daripada sangkar, tetapi dibekalkan dengan sumber minuman tanpa had sebelum sampel darah diambil. Kesemua tikus kemudiannya dibius dengan metil eter dan sampel darah diambil melalui tusukan jantung. Sampel darah yang dikumpulkan dimasukkan ke dalam tiub yang mengandungi antikoagulan (EDTA). Sampel darah terus dianalisis bagi mendapatkan parameter hematologi dengan menggunakan *Hematology Analyzer* (Medonic CA 620 VET, Stockholm, Sweden). Parameter ini terdiri daripada kiraan jumlah leukosit dan leukosit yang mengalami pembezaan (WBC), kiraan eritrosit (RBC), kepekatan hemoglobin (HGB) dan kiraan platelet (PLT).

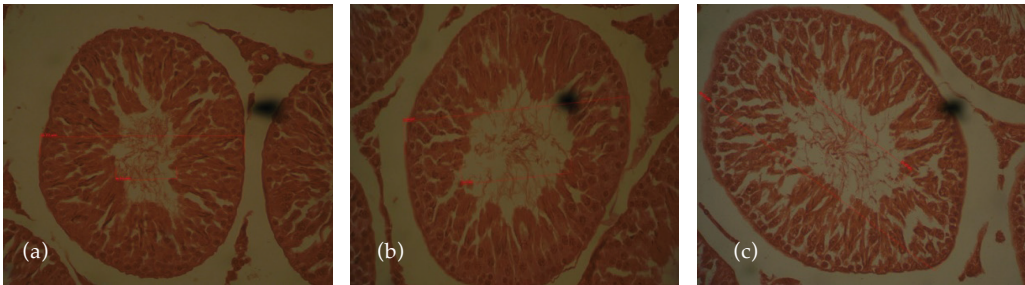
### **Kesan ekstrak KP pada epitelium seminiferus testis (organ pembiakan)**

Kajian toksikologi terhadap ekstrak *K. parviflora* (KP) telah diuji ke atas tikus makmal iaitu *Sprague-Dawley* dengan melakukan pemerhatian pada epitelium seminiferus testis organ pembiakan. Kajian ini dijalankan berdasarkan ketebalan epitelium seminiferus testis, diameter lumen dan keratan rentas tubul seminiferus. Ketebalan (diameter) epitelium tubul seminiferus dan diameter lumen direkodkan pada hari ke-14 dan 28 tempoh kajian dilakukan dengan menggunakan perisian AxioVision Rel.4.6. pada pembesaran 400x (*Rajah 1*). Teknik pewarnaan (*staining technique*) pula dijalankan dengan menggunakan pewarna hematoxylin-eosin (H&E) bagi memudahkan pemerhatian terhadap morfologi epitelium seminiferus testis. Pemerhatian dilakukan ke atas keratan rentas tubul seminiferus dalam tempoh perlakuan kajian hari ke-14 (*Gambar 4*) dan hari ke-28 (*Gambar 5*) untuk tiga rawatan iaitu kawalan yang diberikan air suling, dos rendah ekstrak KP (950 mg/kg) dan dos tinggi ekstrak KP (1,500 mg/kg). Didapati tiada perubahan pada keratan rentas tubul seminiferus yang dirawat dengan ekstrak KP (950 mg/kg KP dan 1,500 mg/kg KP) berbanding dengan kawalan (*Gambar 4* dan *Gambar 5*). *Gambar 4* dan *Gambar 5* menunjukkan tiada pemecahan saluran darah berlaku. Keputusan ini mencadangkan bahawa KP yang diberi tidak memudaratkan sistem tubul seminiferus tikus *Sprague-Dawley*.

Kajian ketoksikan juga dilakukan dengan melihat kesan ketebalan epitelium seminiferus testis [*Gambar 6(a)*] dan diameter lumen [*Gambar 6(b)*] pada tikus setelah diberikan ekstrak KP pada hari ke-14 dan hari ke-28. *Jadual 1* menunjukkan ketebalan epitelium seminiferus testis (n = 6) yang dirawat ekstrak KP dengan kepekatan 950 mg/kg dan 1,500 mg/kg yang menunjukkan tiada perubahan yang signifikan berbanding dengan kawalan pada hari ke-14. Perubahan ketebalan epitelium seminiferus juga tidak berlaku pada hari ke-28 data diambil. Keputusan yang sama juga dapat dilihat kepada data diameter lumen epitelium seminiferus testis (n = 6) (*Jadual 2*).



Gambar 4. Keratan rentas tubul seminiferus bagi (a) kawalan air suling (b) dos 950 mg/kg ekstrak KP (c) dos 1,500 mg/kg ekstrak KP pada tempoh perlakuan 14 hari. H&E (400x)

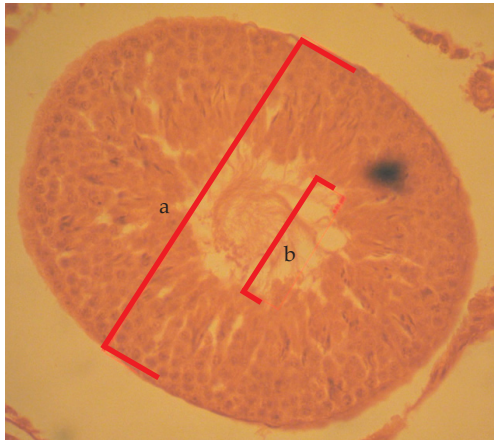


Gambar 5. Keratan rentas tubul seminiferus bagi (a) kawalan air suling (b) dos 950 mg/kg ekstrak KP (c) dos 1,500 mg/kg ekstrak KP pada tempoh perlakuan 28 hari. H&E (400x)

Dapat diperhatikan diameter lumen tidak menunjukkan perubahan pada rawatan dengan ekstrak KP berbanding dengan kawalan pada hari ke-14 dan hari ke-28. Hasil kajian ke atas tikus *Sprague-Dawley* ini mencadangkan bahawa ekstrak yang dihasilkan daripada rizom KP tidak bersifat toksik pada kedua-dua dos rendah (750 mg/kg) dan tinggi (1,500 mg/kg). Kajian yang dijalankan adalah selari dengan kajian lain yang telah membuktikan bahawa ekstrak KP adalah tidak bersifat toksik.

#### **Kesan ekstrak KP pada organ *visceral* (sampel hati dan buah pinggang)**

Kajian ketoksikan ekstrak KP bagi tiga kumpulan kajian tikus *Sprague-Dawley* juga diteruskan dengan melakukan pemerhatian terhadap sel hati (Gambar 7) dan sel buah pinggang (Gambar 8). Pemerhatian di bawah mikroskop jelas menunjukkan bahawa sel hati dan sel buah pinggang tidak menunjukkan simptom ketoksikan. Tiada perubahan kepada hati dan buah pinggang diperhatikan apabila tikus diberi rawatan ekstrak KP pada dos rendah, 950 mg/kg dan pada dos tinggi iaitu 1,500 mg/kg berbanding dengan kawalan. Ia juga menunjukkan tiada sebarang perubahan fizikal pada organ yang dikaji untuk kumpulan kajian tikus yang menerima ekstrak kunyit hitam.



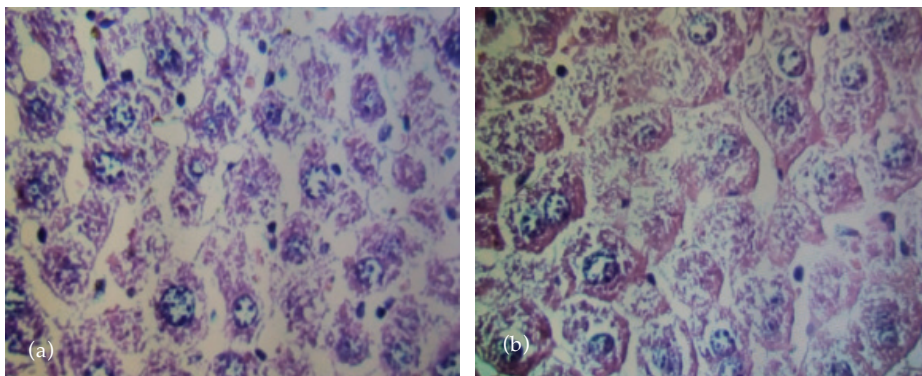
Gambar 6. Epitelium seminiferus testis yang diperhatikan dari segi (a) ketebalan dan (b) diameter lumen

Jadual 1. Kesan ekstrak KP ke atas ketebalan epitelium seminiferus testis (n = 6)

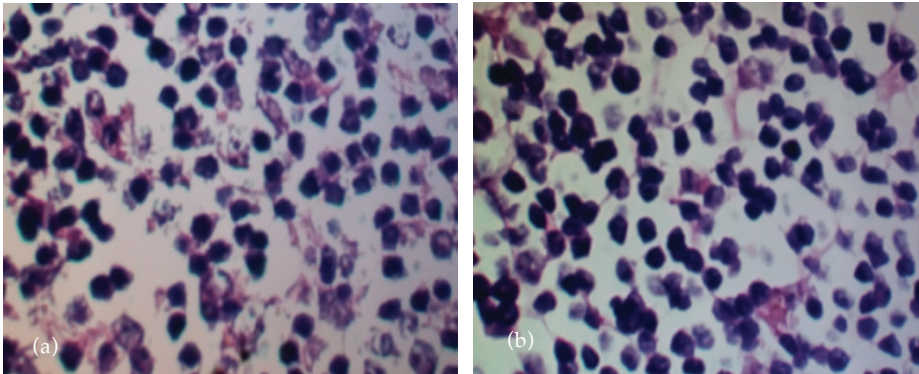
Kumpulan kajian perlakuan	14 hari ketebalan epitelium seminiferus (mm)	28 hari ketebalan epitelium seminiferus (mm)
Kawalan (air suling)	14.99 ± 0.41	13.01 ± 1.44
Dos 950 mg/kg ekstrak KP	14.23 ± 0.24	12.01 ± 0.91
Dos 1,500 mg/kg ekstrak KP	15.90 ± 0.36	13.90 ± 0.35

Jadual 2. Kesan ekstrak KP ke atas diameter lumen epitelium seminiferus testis (n = 6)

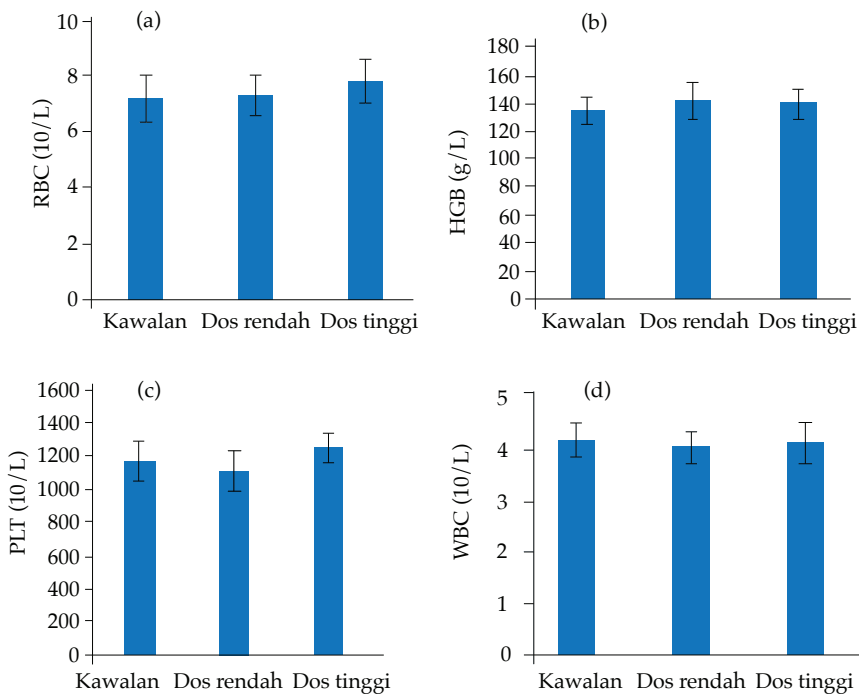
Kumpulan kajian perlakuan	14 hari ketebalan epitelium seminiferus (mm)	28 hari ketebalan epitelium seminiferus (mm)
Kawalan (air suling)	4.8 ± 0.12	3.52 ± 0.21
Dos 950 mg/kg ekstrak KP	4.5 ± 0.19	3.50 ± 0.11
Dos 1,500 mg/kg ekstrak KP	4.7 ± 0.14	3.61 ± 0.25



Gambar 7. (a) Sel hati tikus kawalan air suling. H&E (20x) (b) Sel hati yang dirawat dengan ekstrak KP. H&E (20x)



Gambar 8. (a) Sel buah pinggang tikus kawalan air suling. H&E (20x) (b) Sel buah pinggang yang dirawat dengan ekstrak KP. H&E (20x)



Rajah 1. Nilai hematologi tikus yang diberikan ekstrak KP pada dos berbeza berbanding dengan kawalan bagi tempoh 28 hari

### Kesan ekstrak KP terhadap analisis hematologi

Kajian ketoksikan bagi ekstrak KP ke atas tikus *Sprague-Dawley* dapat dilihat pada keputusan hematologi selepas 28 hari rawatan (Rajah 1). Semua tikus yang diberikan ekstrak KP tidak menunjukkan sebarang perubahan yang signifikan pada nilai RBC [Rajah 1(a)], HGB [Rajah 1(b)], PLT [Rajah 1(c)] dan nilai WBC [Rajah 1(d)] apabila dibandingkan dengan nilai hematologi kawalan. Keputusan nilai hematologi menunjukkan bahawa terdapat sedikit peningkatan bacaan nilai RBC pada tikus yang diberikan dos tinggi ekstrak KP (1,500 mg/kg) berbanding dengan

kumpulan kawalan. Manakala bagi analisis kepekatan HGB pula, tikus yang diberikan dos rendah (950 mg/kg) mempunyai nilai bacaan yang paling tinggi. Nilai bacaan bagi PLT menunjukkan bahawa kumpulan kajian tikus yang diberi dos tinggi ekstrak KP mencatatkan bacaan tertinggi dengan hanya sedikit perbezaan berbanding dengan nilai bagi tikus kumpulan kawalan. Nilai WBC pula menunjukkan kumpulan kawalan mempunyai bacaan paling tinggi berbanding dengan dua kumpulan kajian yang dirawat dengan ekstrak KP. Berdasarkan pemerhatian, perbezaan nilai pada parameter hematologi jelas menunjukkan bahawa tiada perbezaan signifikan yang berlaku antara kumpulan kajian dan kumpulan kawalan. Ini membuktikan bahawa ekstrak KP yang berasaskan air ini tidak menunjukkan tanda ketoksikan dalam darah tikus *Sprague-Dawley* dan tidak bergantung pada dos ekstrak (Yoshino et al. 2019). Kajian lepas juga membuktikan bahawa ekstrak KP tidak memberi kesan toksik kepada sel darah tikus (Sudwan et al. 2006)

### **Kesimpulan**

Kajian ketoksikan ekstrak KP terhadap tikus *Sprague-Dawley* telah dijalankan ke atas tiga kumpulan tikus yang diwakili oleh kumpulan kawalan, kumpulan yang diberi dos rendah (950 mg/kg) dan kumpulan yang diberi dos tinggi 1,500 mg/kg. Pemberian ekstrak KP tidak menyebabkan perbezaan yang signifikan terhadap ketebalan epitelium seminiferus testis pada hari ke-14 dan ke-28. Selain itu, ekstrak KP juga tidak menunjukkan tanda-tanda ketoksikan pada sel darah tikus berdasarkan nilai bacaan bagi parameter hematologi. Sel hati dan sel buah pinggang tikus yang dirawat dengan ekstrak KP tidak menunjukkan tanda-tanda farmakotoksik dan abnormaliti. Sel ini berfungsi dalam keadaan baik walaupun ekstrak KP diberikan pada dos yang tinggi. Hasil kajian ini boleh menjadi panduan yang bermanfaat untuk mempertimbangkan tahap dos ekstrak KP yang sesuai digunakan untuk penghasilan produk kesihatan yang berasaskan rizom kunyit hitam pada masa hadapan.

### **Bibliografi**

- Arome, D. dan Chinedu, E. (2014). The importance of toxicity testing. *Journal of Pharmaceutical and BioScience* 4(2013): 146 – 148
- Chivapat, S., Chavalittumrong, P., Attawish, A. dan Rungsipipat, A. (2010). Chronic toxicity study of *Kaempferia parviflora* wall ex. Extract. *Thai Journal of Veterinary Medicine* 40(4): 377 – 383
- Fungfuang, W. (2019). Effects of black ginger (*Kaempferia parviflora*) on the testicular function in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Chiang Mai Veterinary Journal* 14: 95 – 107
- Loomis and Hayes, T.A. Loomis, A.W. (1996). HayesLoomis's Essentials of Toxicology (4th ed.), Academic Press, CA
- Pandit, S., Dhawan, A. dan Parthasarathi, R. (2017). Emerging computational methods for predicting chemically induced mutagenicity. *Mutagenicity: Assays and Applications*, Elsevier Inc.



- Parasuraman, S. (2011). Toxicological screening. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 2(2): 74 – 79
- Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., Amornlerdpison, D. dan Pojanagaroon, S. (2005). Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *Journal of Ethnopharmacology* 102(1): 120 – 122
- Saganuwan, S.A. (2017). Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: An overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 20(4): 291 – 318
- Saokaew, S., Wilairat, P., Raktanyakan, P., Dilokthornsakul, P., Dhippayom, T., Kongkaew, C., Sruamsiri, R., Chuthaputti, A. dan Chaiyakunapruk, N. (2016). Clinical effects of krachaidum (*Kaempferia parviflora*): A Systematic Review: 1 – 16
- Shimada, T., Horikawa, T., Ikeya, Y., Matsuo, H., Kinoshita, K., Taguchi, T., Ichinose, K., Takahashi, K. dan Aburada, M. 2011. Preventive effect of *Kaempferia parviflora* ethyl acetate extract and its major components polymethoxyflavonoid on metabolic diseases. *Fitoterapia* 82(8): 1272 – 1278
- Shimoda, H. dan Kato, H. (2012). Black Ginger Extract Method
- Sudwan, P., Saenphet, K., Saenphet, S. dan Suwansirikul, S. (2006). Effect of *Kaempferia parviflora* Wall. ex. Baker on sexual activity of male rats and its toxicity. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 37 Suppl 3(suppl 3): 210 – 215
- Sutthanut, K., Sripanidkulchai, B., Yenjai, C. dan Jay, M. (2007). Simultaneous identification and quantitation of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 1143(1 – 2): 227 – 233
- Toda, K., Hitoie, S., Takeda, S. dan Shimoda, H. (2016). Black ginger extract increases physical fitness performance and muscular endurance by improving inflammation and energy metabolism. *Heliyon* 2(5)
- Tung, Y.C., Chou, Y.C., Hung, W.L., Cheng, A.C., Yu, R.C., Ho, C.T. dan Pan, M.H. 2019. Polymethoxyflavones: Chemistry and molecular mechanisms for cancer prevention and treatment. *Current Pharmacology Reports* 5(2): 98 – 113
- Yenjai, C., Prasphan, K., Daodee, S., Wongpanich, V. dan Kittakoop, P. (2004). Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia* 75(1): 89 – 92
- Yoshino, S., Awa, R., Ohto, N., Miyake, Y. dan Kuwahara, H. (2019). Toxicological evaluation of standardized *Kaempferia parviflora* extract: Sub-chronic and mutagenicity studies. *Toxicology Reports* 6: 544 – 549

### **Ringkasan**

*Kaempferia parviflora* (KP) merupakan spesies herba yang digunakan untuk tujuan perubatan dan mempunyai potensi yang tinggi bagi pembangunan pelbagai produk kesihatan. Kajian ketoksikan ekstrak KP ini dijalankan untuk mengetahui dan menguji tahap keselamatan ekstrak KP ke atas organisma hidup seperti tikus *Sprague-Dawley* yang digunakan dalam kajian. Dua dos ekstrak KP pada dos rendah (950 mg/kg) dan dos tinggi (1,500 mg/kg) berserta dengan satu kawalan (air suling) telah digunakan. Kajian dijalankan bagi tempoh 28 hari bagi mengesan jika terdapat tanda ketoksikan yang disebabkan oleh ekstrak KP ke atas tikus. Kajian ketoksikan juga melibatkan analisis parameter hematologi iaitu kiraan jumlah leukosit dan leukosit yang mengalami pembezaan (WBC), kiraan eritrosit (RBC), kepekatan hemoglobin (HGB), kiraan platelet (PLT) dan analisis histopatologi organ viseral iaitu sel buah pinggang dan hati. Hasil kajian menunjukkan bahawa ekstrak kunyit hitam tidak menyebabkan risiko ketoksikan yang signifikan terhadap tikus yang dikaji berbanding dengan tikus kumpulan kawalan.

### **Summary**

*Kaempferia parviflora* (KP) is a medicinal plant with great potential for the development of a variety of health products. The purpose of this KP extract toxicity study were to determine and test the safety of KP extract on living organisms, such as the *Sprague-Dawley* rats employed in the experiment. Two doses of KP extract were given at a low dose (950 mg/kg) and a high dose (1,500 mg/kg), with distilled water as a control. The rats were fed for 28 days to see observe if there any toxicity signs produced by the KP extract. Toxicity tests on *Sprague-Dawley* rats included haematological measures such as total and differentiated leukocytes count (WBC), erythrocyte count (RBC), haemoglobin concentration (HGB), and platelet count (PLT), as well as visceral organ histopathology in kidney and liver cells. When compared to the control group rats, the results demonstrated that KP extract did not provide a substantial risk of toxicity.

### **Pengarang**

Zuraida Ab Rahman (Dr.)

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor  
E-mel: azuraida@mardi.gov.my

Ayu Nazreena Othman, Chandradevan Machap dan Shazwan Abd Shukor  
Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Nur Syafiqah Suraya Razali dan Fazilatun Abdul Malek  
Pusat Biosains dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM). 43600 Bangi, Selangor