

## Verifikasi kit ELISA untuk pengesan penyakit antraknos cili

(Verification of ELISA kit for detection of chilli anthracnose disease)

Norhafniza Awaludin, Faridah Salam, Mohammad Roff Mohd Nor, Suhanna Ahmad, Nurul Hidayah Hussin, Nor Azizah Parmin dan Norhazrati Manshor

### Pengenalan

Cili atau nama saintifiknya *Capsicum annuum* L. merupakan salah satu daripada tanaman sayuran berbuah yang penting di Malaysia. Spesies *Capsicum* yang lain adalah seperti *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. chinensis* dan *C. pubescens*. Cili bukan sahaja popular sebagai bahan masakan, tetapi juga mengandungi khasiat dari segi kandungan vitamin A, C dan E, karotenoid, sebatian fenolik serta sumber mineral seperti kalsium, zat besi dan zink. Tanaman cili di Malaysia melibatkan penanaman seluas 3,163 hektar dengan pengeluaran hasil sebanyak 28,264 tan metrik. Negeri Johor dan Kelantan mencatatkan pengeluaran hasil yang tinggi iaitu masing-masing mencapai 6,079 dan 7,171 tan metrik dengan nilai pengeluaran sebanyak RM46 juta dan RM54 juta. Walau bagaimanapun, peratusan kadar sara diri (SSR) bagi tahun 2020 (*Jadual 1*) untuk tanaman cili masih rendah iaitu sekitar 31% berbanding dengan sayuran jenis buah yang lain seperti tomato, terung, timun dan bendi yang masih kekal melebihi 100%. Penurunan hasil cili ini dipengaruhi oleh faktor perubahan iklim dan cuaca, varieti cili serta serangan penyakit tanaman.

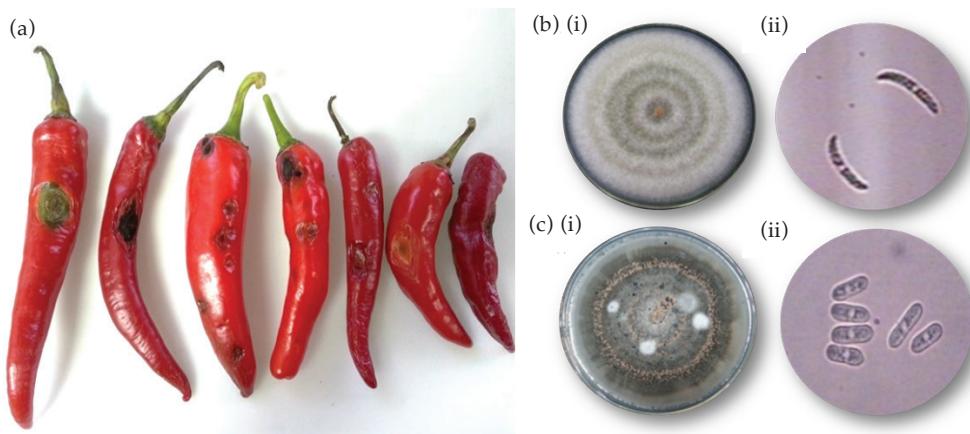
Penyakit reput buah atau antraknos merupakan salah satu penyakit cili yang berpunca daripada serangan kulat *Colletotrichum* spp. Beberapa negara seperti Thailand, Korea, China dan Malaysia mencatatkan kesan penurunan hasil 12 – 50% akibat serangan antraknos dan India merupakan negara tertinggi yang kerap mencatatkan kejadian serangan sekitar 66 – 84%. Terdapat pelbagai spesies *Colletotrichum* yang telah dilaporkan berkait dengan punca penyakit antraknos cili dan dua spesies yang paling banyak dikaji ialah *Colletotrichum gloeosporioides* dan *Colletotrichum*

Jadual 1. Indeks kadar sara diri (SSL) sayuran jenis berbuah

Tanaman	Tahun 2019 (%)	Tahun 2020 (%)
Cili	30.8	30.9
Tomato	131.2	123.7
Terung	119.3	112.1
Bendi	104.4	102.2
Timun	112.1	110.8

(Sumber: Jabatan Perangkaan Malaysia 2020)

*capsici*. Penyakit antraknos boleh menyerang pada peringkat buah di ladang dan juga peringkat lepas tuai terutama semasa tempoh penyimpanan. Simptom penyakit antraknos ini dapat dicerap bermula dengan penghasilan bintik-bintik cecincin berpusat berwarna perang-gelap, kesan nekrotik tisu pada permukaan buah cili yang akhirnya membawa kesan pereputan buah (*Gambar 1*). Sebarang simptom yang dapat dilihat dengan jelas pada pokok dan buah cili dianggarkan telah berada pada fasa lewat serangan *Colletotrichum spp.* dengan kepekatan sel melebihi  $10^8$  sel spora mL<sup>-1</sup>. Lesi antraknos bukan sahaja memberi kesan kepada kualiti buah, malah juga boleh mengurangkan berat kering buah serta kuantiti oleoresin dan kapsaisin.



Gambar 1. (a) Simptom penyakit antraknos cili, (b) (i) Kultur *C. gloeosporioides* di atas PDA, (ii) morfologi sel spora kulat *C. gloeosporioides* dicerap melalui mikroskop, (c) (i) Kultur *C. capsici* di atas PDA dan (ii) morfologi sel spora kulat dicerap melalui mikroskop

Kawalan kepada penyakit antraknos cili bukan sahaja bergantung kepada penggunaan semburan fungisid ataupun kawalan-bio berdasarkan nanopartikel pada peringkat ladang dan lepas tuai, malah memerlukan langkah kawalan awal bermula peringkat biji benih. Penghasilan teknologi yang mampu mengesan jangkitan kulat *Colletotrichum spp.* bermula pada peringkat biji benih ataupun pada peringkat awal penanaman (sebelum terhasilnya simptom serangan penyakit) merupakan salah satu alat penting bagi keperluan sistem amaran awal atau *alert warning systems* (EWS) serangan penyakit tanaman. Pelbagai pendekatan telah dibangunkan untuk mengesan agen penyakit antraknos ini sama ada secara kaedah konvensional melalui pemiringan kultur kulat atau molekular. Walau bagaimanapun, kedua-dua kaedah ini mempunyai keterbatasan dari segi tempoh masa yang panjang bagi isolasi dan penentusah agen penyakit (5 – 7 hari bagi analisis mikrobial), memerlukan kepakaran dan tenaga kerja mahir, kos yang tinggi bagi analisis molekular dan isu ketoksikan reagen yang digunakan.

Justeru, melihat kepada keperluan bagi pemantapan sistem pengurusan kawalan penyakit cili dengan pengesanan lebih awal, penghasilan teknologi pengesanan pantas penyakit antraknos telah dibangunkan melalui teknologi kit pengesanan ELISA iaitu singkatan kepada *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (Gambar 2). Kit ELISA merupakan salah satu platform teknologi diagnostik yang berdasarkan penggunaan biomolekul antibodi sebagai agen pengesan spesifik kulat *C. gloeosporioides* dan *C. capsici*. Antibodi yang dihasilkan secara *in-house* oleh MARDI ini terbukti dapat memberikan pengesanan kedua-dua agen penyakit melalui verifikasi terhadap buah cili dan biji benih cili terinfeksi dengan kulat tersebut.

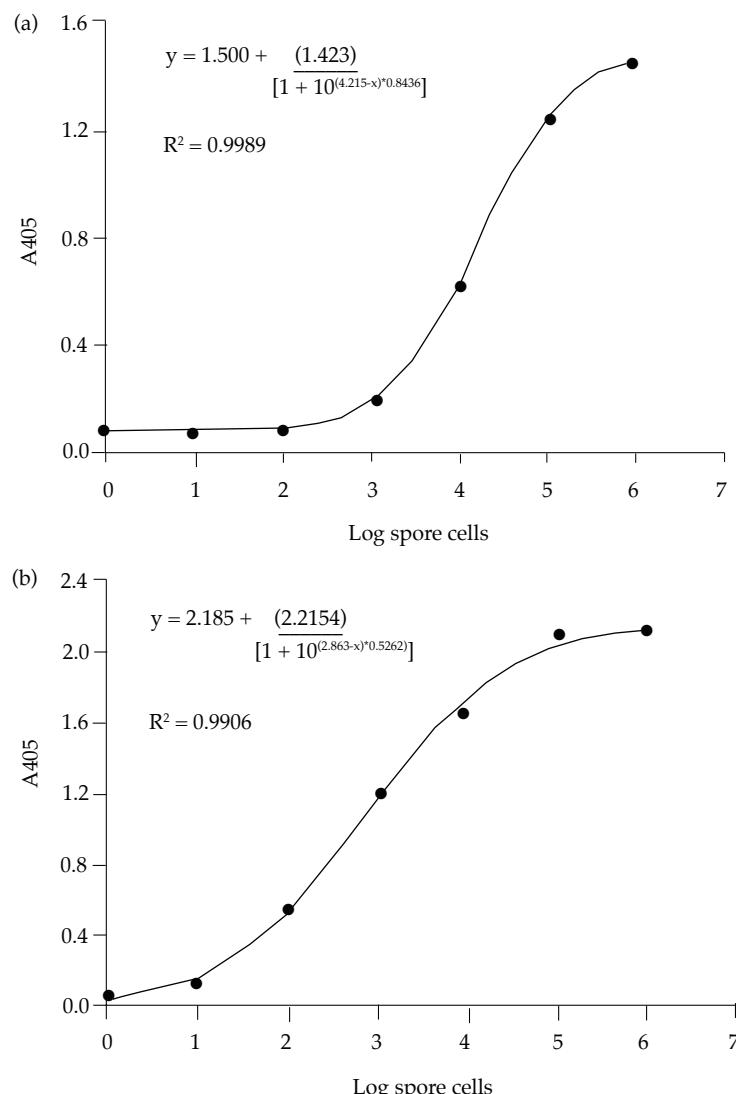


Gambar 2. Kit ELISA bagi pengesanan penyakit antraknos cili yang terdiri daripada (a) reagen asai; antibodi-Cgl-Cc, antibodi konjugat enzim alkaline phosphatase, larutan penyekat non-fat dried milk (NFDM), larutan penimbang cucian phosphat buffer saline-Tween20 (PBST), larutan penimbang sampel dan substrat, (b) siri kepekatan piawai, (c) tiub penitis, dan (d) mikroplat lut sinar 96 telaga

#### Proses verifikasi pengesanan penyakit antraknos cili menggunakan kit ELISA

Pembangunan teknologi kit ELISA ini secara amnya meliputi tiga fasa iaitu 1) penghasilan biomolekul antibodi spesifik terhadap agen penyakit antraknos, 2) pembangunan kaedah asai berserta kalibrasi piawai dan 3) verifikasi teknologi bagi pengesanan sampel. Antibodi poliklonal telah dihasilkan melalui kaedah imunisasi konjugat patogen *C. gloeosporioides* dan *C. capsici* ke atas arnab kajian (baka ZIKA) untuk tempoh enam bulan.

Seterusnya, antibodi ini ditularkan melalui kaedah pemendakan protein, dialisis dan kromatografi afiniti, diikuti dengan analisis penentuan titer dan ujian tindak balas silang. Kedua-dua antibodi ini mempunyai tahap titer 1:100,000 dan digunakan dalam pembangunan kit ELISA. Kit ELISA ini mencapai kalibrasi piawai yang signifikan bagi pengesanan *C. gloeosporioides* ( $R^2 = 0.9989$ ) dan *C. capsici* ( $R^2 = 0.9906$ ) dengan had pengesanan masing-masing serendah 66 dan 4 sel spora mL<sup>-1</sup> (Rajah 1). Terdapat dua jenis sampel disediakan bagi tujuan verifikasi iaitu sampel buah cili dan biji benih cili yang teraruh. Bagi kajian ini kultivar cili yang dipilih ialah MC12.



Rajah 1. Kalibrasi lengkuk piawai kit ELISA bagi pengesanan (a) *C. gloeosporioides* dan (b) *C. capsici*

*i) Inokulasi sampel buah cili dan biji benih cili dengan patogen antraknos*

Bagi verifikasi pengesanan patogen dalam buah cili, pengesanan dilakukan ke atas buah cili yang ditanam dalam persekitaran terkawal rumah kaca seperti dalam *Carta alir 1*. Ini bertujuan bagi menghasilkan sampel kajian yang bebas daripada sebarang ancaman penyakit. Buah cili peringkat masak merah dituai dan dinyahkuman (steril) melalui rendaman selama dua jam di dalam larutan sodium hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ). Setelah dikeringkan pada suhu bilik, buah cili disusun di dalam bekas steril dan dilukakan dengan diameter 1 cm pada permukaan buah. Kemudian, plak isolat kulat *C. gloeospirooides* dan *C. capsici* (kultur 5 – 6 hari) bersaiz diameter 1 cm diletakkan pada permukaan luka tersebut (secara berasingan) dan dibiarkan selama 10 hari pada suhu bilik. Kesan lesi antraknos dicerap dan sampel ini kemudiannya diuji dengan kit ELISA. Bagi verifikasi sampel biji benih cili pula



Pokok cili ditanam dalam persekitaran terkawal di rumah kaca sehingga peringkat cili masak merah



Buah cili pada peringkat masak merah dituai untuk ujian verifikasi



Sampel yang telah diinokulasi ini disimpan pada suhu bilik selama 10 hari dan diserap kesan lesi simptom antraknos serta pengujian menggunakan kit ELISA



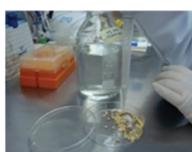
Cerapan lesi simptom



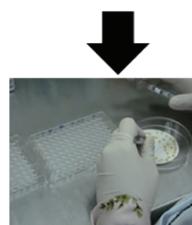
Kit ELISA

*Carta alir 1. Ujian verifikasi kit ELISA bagi pengesanan *C. gloeospirooides* dan *C. capsici* bagi sampel buah cili*

(Carta alir 2), sampel disterilkan terlebih dahulu di dalam larutan sodium hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) dan dikeringkan pada suhu bilik. Kemudian, sampel ini direndam di dalam larutan inokulum kulat *C. gloeosporioides* (berkepekatan  $1 \times 10^8$  sel spora  $\text{mL}^{-1}$ ) selama semalam pada suhu bilik dan dikeringkan di atas kertas turas (steril) dan akhirnya digunakan bagi tujuan analisis. Sampel biji benih yang telah diinfeksi ini diuji dengan kit ELISA, kaedah pemiringan kultur di atas PDA, pencerapan di bawah mikroskop cahaya dan penanaman di dalam dulang semai.



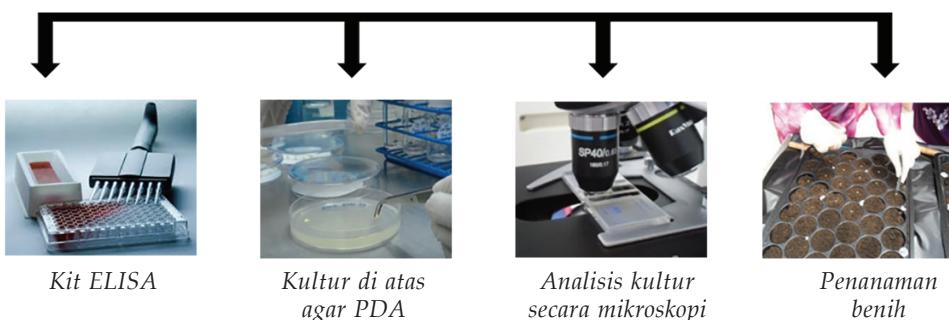
Biji benih dinyahkuman dengan larutan sodium hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) selama 2 jam



Biji benih direndam dalam larutan inokulum *C. gloeosporioides* ( $1 \times 10^8$  sel  $\text{mL}^{-1}$ ) semalam (suhu bilik) dan dikeringkan di atas kertas penapis



Verifikasi pengesanan *C. gloeosporioides* dalam biji benih dianalisis menggunakan empat pendekatan:



Carta alir 2. Ujian verifikasi kit ELISA bagi pengesanan *C. gloeosporioides* bagi sampel biji benih

### *ii) Pengekstrakan sampel buah cili dan biji benih cili*

Bagi tujuan pengekstrakan, buah cili (dipotong dalam ukuran diameter 1 – 2 cm) dan biji benih yang disediakan di bahagian (i) disejuk beku dengan cecair nitrogen bagi tempoh 2 minit. Sebanyak 2 g daripada sampel ini kemudiannya dikisar halus dan dimasukkan di dalam tiub sampel. Sebanyak 5 mL larutan penimbal sampel (0.01 M *phosphate buffer saline*) ditambah ke dalam tiub dan digoncang sebatи selama 2 minit. Sampel ini kemudiannya dituras menggunakan kertas penuras (Whatmann 0.45  $\mu\text{m}$ ) dan hasil turasan diambil untuk ujian pengesanan.

### *iii) Pengesanan sampel menggunakan kit ELISA*

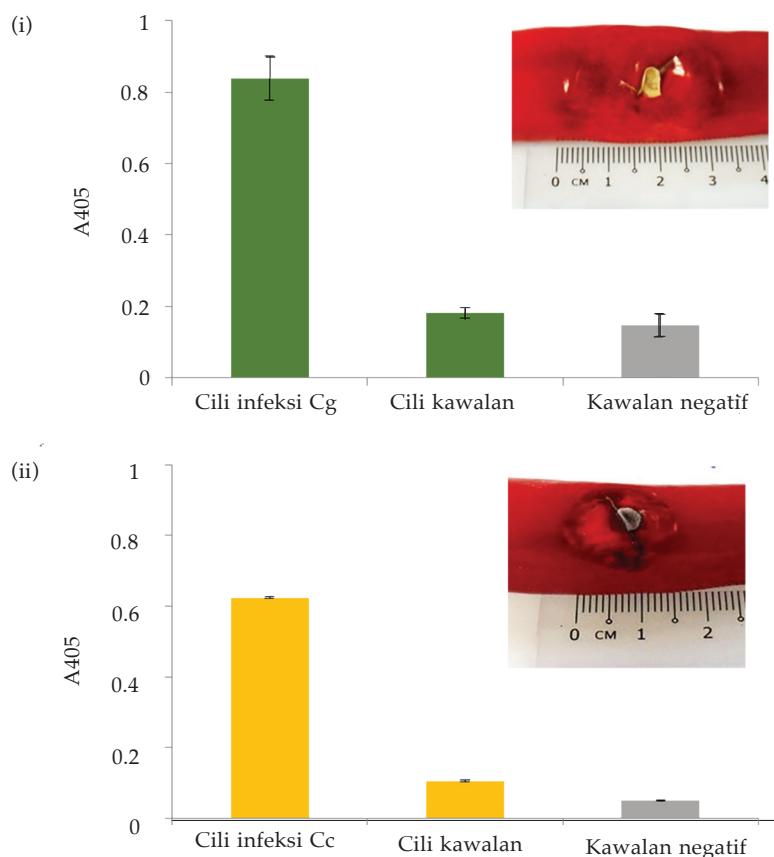
Kit ELISA yang dibangunkan ini mengandungi set mikroplat lut sinar 96 telaga, antibodi-Cg/-Cc, antibodi konjugat enzim *alkaline phosphatase*, reagen penyekat *non-fat dried milk* (NFDM), larutan penimbal cucian *phosphate buffer saline-Tween20* (PBST), substrat *p-nitrophenol* (PNP) dan larutan penimbal sampel. Lengkuk piawai pengasaiannya dibangunkan dengan menggunakan siri kepekatan kulat dalam julat  $10^0$  –  $10^6$  sel spora  $\text{mL}^{-1}$ . Aplikasi pengesanan kit ini boleh digunakan bagi penentuan patogen dalam sampel buah cili dan juga biji benih. Tatacara penggunaan kit ini adalah seperti yang berikut:

1. Sebanyak  $100 \mu\text{L}$  sampel/sel piawai dimasukkan ke dalam telaga mikroplat dan disimpan semalam pada suhu sejuk ( $4^\circ\text{C}$ ).
2. Setelah semalam, sampel dibuang dan mikroplat dicuci dengan  $300 \mu\text{L}$  larutan penimbal PBST sebanyak tiga kali.
3. Sebanyak  $200 \mu\text{L}$  larutan penyekat (1% NFDM) dimasukkan ke dalam telaga mikroplat dan dibiarkan selama 1 jam.
4. Mikroplat dibersihkan sekali lagi dengan tiga kali cucian menggunakan PBST.
5. Sebanyak  $100 \mu\text{L}$  reagen A (antibodi primer) dimasukkan ke dalam telaga dan dibiarkan selama 1 jam.
6. Mikroplat dibersihkan lagi dengan tiga kali cucian menggunakan PBST.
7. Sebanyak  $100 \mu\text{L}$  reagen B (antibodi konjugat) dimasukkan ke dalam telaga dan dibiarkan selama 2 jam.
8. Mikroplat dibersihkan sebanyak tiga kali cucian dengan PBST.
9. Sebanyak  $100 \mu\text{L}$  reagen C (substrat) dimasukkan ke dalam telaga dan dibiarkan selama 15 minit sebelum dibaca pada penyerapan 405 nm (A405) menggunakan spektrofotometer.
10. Bacaan asai ini diinterpretasikan menggunakan graf lengkuk piawai (A405 vs *log spore cells*) bagi menentukan bilangan sel spora kulat.

### **Verifikasi pengesanan buah cili yang telah diinfeksi**

Bagi sampel buah cili diinfeksi *C. gloeosporioides* dan *C. capsici*, hasil dengan jelas menunjukkan berlakunya kesan lesi, lecur dan lembik secara bulatan yang masing-masing berukuran saiz 3 cm dan 1.5 cm yang menandakan kesan kerosakan tisu buah

akibat jangkitan kedua-dua kulat (*Rajah 2*). Kesan kerosakan ini membawa kepada pereputan tisu buah dan akhirnya menjelaskan kualiti buah. Ujian pengesanan kit ELISA terhadap buah cili yang diinfeksi ini menunjukkan bacaan pengesanan yang tinggi bagi *C. gloeosporioides* pada penyerapan optikal 0.8 ( $\approx 10^4$  sel spora  $mL^{-1}$ ) berbanding dengan sampel buah cili kawalan (tanpa infeksi) dan kawalan negatif asai (larutan penimbang). Manakala bagi *C. capsici*, pengesanan kit ELISA turut memberikan bacaan yang tinggi (0.624) bagi sampel diinfeksi berbanding dengan sampel kawalan. Ini jelas menunjukkan bahawa kit ELISA yang dibangunkan dengan antibodi spesifik terhadap *C. gloeosporioides* dan *C. capsici* dapat mengesan patogen penyakit antraknos cili pada sampel buah.



*Rajah 2. Pengesanan buah cili diinfeksi dengan kulat *C. gloeosporioides* (Cg) dan *C. capsici* (Cc) menggunakan kit ELISA antraknos*

### **Verifikasi pengesanan biji benih cili yang telah diinfeksi**

Bagi pengesanan *C. gloeosporioides* di dalam biji benih cili terinfeksi, sebanyak 24 sampel telah diuji (*Jadual 2*). Hasil daripada pengesanan kit ELISA, kesemua sampel memberikan keputusan positif dengan nilai penyerapan optikal dalam julat 0.1 – 0.3 berbanding dengan sampel kawalan (0.05). Pencerapan biji benih yang diuji di atas piring kultur agar PDA juga menunjukkan pertumbuhan kulat *C. gloeosporioides* pada setiap biji benih terinfeksi dengan sedikit kontaminasi (*Gambar 3*). Ini menjelaskan bahawa sampel yang diinfeksi telah berjaya dilaksanakan dan dapat dibandingkan antara kaedah konvensional dan kit ELISA. Verifikasi hasil pengujian ini dikukuhkan lagi dengan pencerapan sel patogen di bawah mikroskop cahaya. Manakala bagi ujian penanaman biji benih teraruh ini, 6 daripada 24 sampel berupaya bercambah dan ini memberikan indikasi bahawa 25% biji benih

**Jadual 2.** Verifikasi pengesanan biji benih cili yang dijangkiti kulat *C. gloeosporioides* (Cg)

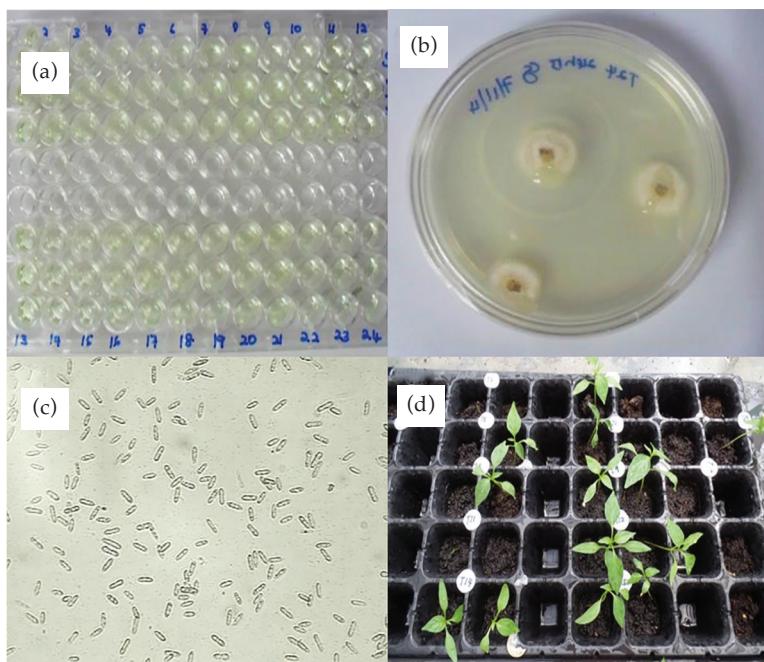
Sampel	ELISA <sup>a</sup>	Kultur agar <sup>b</sup>	Mikroskop <sup>c</sup>	Percambahan <sup>d</sup>
T1	+	+	+	+
T2	+	+	+	+
T3	+	+	+	-
T4	+	+	+	-
T5	+	+	+	-
T6	+	+	+	-
T7	+	+	+	-
T8	+	+	+	-
T9	+	+	+	-
T10	+	+	+	-
T11	+	+	+	-
T12	+	+	+	+
T13	+	+	+	-
T14	+	+	+	+
T15	+	+	+	-
T16	+	+	+	-
T17	+	+	+	-
T18	+	+	+	-
T19	+	+	+	+
T20	+	+	+	-
T21	+	+	+	-
T22	+	+	+	+
T23	+	+	+	-
T24	+	+	+	-

Nota: <sup>a</sup>pengesanan melebihi bacaan 0.09 (A405)

<sup>b</sup>pencerapan morfologi kultur Cg di atas piring *potato dextrose agar* (PDA)

<sup>c</sup>pencerapan sel kulat Cg di bawah mikroskop cahaya

<sup>d</sup>percambahan biji benih terinfeksi Cg di dalam pot semaihan



*Gambar 3. Verifikasi pengesanan biji benih teraruh kulat *C. gloeospirooides* dengan kaedah (a) ELISA, (b) pemiringan kultur kulat di atas medium PDA, (c) cerapan sel kulat di bawah mikroskop cahaya dan (d) percambahan biji benih di dalam dulang semaihan*

yang sudah terinfeksi di peringkat awal mampu untuk bercambah dan ini boleh membawa kepada punca serangan penyakit antraknos sebagai penyakit bawaan biji benih.

### Kesimpulan

Kit ELISA pengesanan antraknos cili merupakan teknologi diagnostik yang mampu mengesan kehadiran patogen penyakit sama ada di peringkat penghasilan buah mahupun di peringkat biji benih. Aplikasi di dalam ujian saringan kesihatan biji benih dapat membantu dalam kawalan kualiti dan bebas penyakit. Verifikasi terhadap kedua-dua jenis sampel cili ini menyokong kebolehpercayaan kit yang dibangunkan bagi tujuan pengesanan awal penyakit tanaman cili. Proses pengendalian ujian kit ini juga dapat memberikan keputusan dalam tempoh waktu yang pendek (4 jam) berbanding dengan kaedah konvensional analisis mikrob (6 – 7 hari), mudah dikendalikan dan tidak menggunakan reagen berbahaya seperti kesan toksik.

### Penghargaan

Projek ini dilaksanakan di bawah biayaan Dana Science Fund (02-03-08-SF0263) oleh Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi Malaysia (MOSTI).

## Bibliografi

- Alam, A., Farah, N., Hasima, N., Noor, A., Ain, K., Alias, N., Aslani, F. dan Prodhan, M.A. (2018). Plants evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities and capsaicinoid compounds of chilli (*Capsicum spp.*) germplasms available in Malaysia. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 9: 46 – 54
- Dela Cueva, F.M., Mendoza, J.S. dan Balendres, M.A. (2018). A new *Colletotrichum* species causing anthracnose of chilli in the Philippines and its pathogenicity to chilli cultivar Django. *Crop Protection* 112: 264 – 268
- Iliger, K.S., Sofi, T.A., Bhat, N.A., Ahanger, F.A., Sekhar, J.C., Elhendi, A.Z., Al-Huqail, A.A. dan Khan, F. (2021). Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(2): 1,477 – 1,486
- Jabatan Pertanian Malaysia (2020). Statistik Tanaman Sayur-Sayuran Dan Tanaman Ladang Malaysia 2020. *Jabatan Pertanian Semenanjung Malaysia*: 1 – 215
- Kandan, A., Akhtar, J., Singh, B., Pal, D., Chand, D., Agarwal, P.C. dan Dubey, S.C. (2016). Application of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid and sensitive detection of fungal pathogen, *Colletotrichum capsici* in *Capsicum annuum*. *Journal of Environmental Biology* 37(6): 1,355 – 1,360
- Karim, K.M.R., Rafii, M.Y., Misran, A.B., Firdaus, M., Ismail, B., Harun, A.R., Khan, M.H., Farhana, M. dan Chowdhury, N. (2021). Current and prospective strategies in the varietal improvement of chilli (*Capsicum annuum L.*) specially heterosis breeding. *Agronomy* 11: 2,217
- Kiran, R., Akhtar, J., Kumar, P. dan Shekhar, M. (2020). Anthracnose of chilli: Status, diagnosis, and management. *Capsicum*, hlm. 1 – 16
- Noor, N.M. dan Zakaria, L. (2018). Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. associated with chilli anthracnose in peninsular Malaysia. *European Journal of Plant Pathology* 151(4): 961 – 973
- Olatunji, T.L. dan Afolayan, A.J. (2018). The suitability of chilli pepper (*Capsicum annuum L.*) for alleviating human micronutrient dietary deficiencies : A review. *Food Science and Nutrition* 6: 2,239 – 2,251
- Saini, T.J., Tiwari, A., Yeole, M. dan Gupta, S. (2021). Effect of pungency levels of *Capsicum* spp. fruits on tolerance to anthracnose. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 116: 101720

## **Ringkasan**

Kit diagnostik ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) untuk pengesahan pantas penyakit antraknos cili telah dibangunkan untuk membantu pemantauan dan kawalan penyakit. Platform asas teknologi ini bergantung kepada biomolekul antibodi yang dihasilkan secara khusus terhadap dua agen penyakit antraknos iaitu *Colletotrichum gloeosporioides* dan *Colletotrichum capsici*. Pengesahan adalah berdasarkan perubahan warna kuning dan tindak balas diukur dengan penyerapan optik pada 405 nm menggunakan spektrofotometer. Had pengesahan untuk *C. gloeosporioides* dan *C. capsici* masing-masing ialah  $66 \text{ sel spora mL}^{-1}$  dan  $4 \text{ sel spora mL}^{-1}$ . Pengesahan pengesahan dengan sampel menunjukkan keupayaan teknologi diagnostik dalam pengurusan penyakit tumbuhan yang menyediakan alat yang mudah dan kos efektif berbanding dengan kaedah konvensional.

## **Summary**

ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) diagnostic kit for rapid detection of chilli anthracnose disease has been developed to assist the monitoring and control of the disease. The basic platform of this technology relies on the antibody biomolecules that are specifically produced against two anthracnose disease agents, namely *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum capsici*. The detection is based on yellow colour changes and the reaction is measured by optical absorption at 405 nm using a spectrophotometer. The detection limits for *C. gloeosporioides* and *C. capsici* are  $66 \text{ spore cells mL}^{-1}$  and  $4 \text{ spore cells mL}^{-1}$  respectively. The verification of the detection with samples demonstrates the ability of diagnostic technology in plant disease management that provides a simple and cost-effective tool compared to conventional methods.

## **Pengarang**

Norhafniza Awaludin

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: hafniza@mardi.gov.my

Faridah Salam (Dr.), Nurul Hidayah Hussin, Nor Azizah Parmin dan  
Norhazrati Manshor

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Mohammad Roff Mohd Nor (Dr.)  
Pejabat Ketua Pengarah, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Suhanna Ahmad  
Pusat Penyelidikan Hortikultur  
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM  
43400 Serdang, Selangor