



KERAJAAN MALAYSIA

LAPORAN AKHIR

Kajian Pembangunan Kaedah Pengesanan Pantas Organisma Diubahsuai Genetik (GMO) Dan Produk GMO Dalam Makanan Ruji

Laporan disediakan oleh Universiti Malaya

15 September 2023



**Kajian Pembangunan Kaedah Pengesanan Pantas Organisma Diubahsuai Genetik
(GMO) Dan Produk GMO Dalam Makanan Ruji**

Laporan Akhir

*Universiti Malaya
Lembah Pantai, 50603 Kuala Lumpur
03-7967 3502*



BUTIRAN PROJEK

TAJUK PROJEK:

Kajian Pembangunan Kaedah Pengesanan Pantas Organisma Diubahsuai Genetik (GMO) dan Produk GMO dalam Makanan Ruji/ *Development of a Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for On-site Detection of Living Modified Organisms in Staple Food*

PIHAK PEMBIAYAAN/ INSTITUSI:

Jabatan Biokeselamatan, Kementerian Sumber Asli, Alam Sekitar dan Perubahan Iklim

KETUA PROJEK:

Profesor Dr. Saiful Anuar Bin Karsani

AHLI PROJEK:

1. Dr. Gopinath Venkatraman
2. Profesor Dr. Jennifer Ann Harikrishna
3. Profesor Dr. Lau Yee Ling
4. Profesor Dr. Puteri Shafinaz Akmar Binti Abdul Rahman
5. Dr. Kumutha Malar Vellasamy
6. Dr. Yvonne Liew Jing Mei
7. Profesor Dr. Rofina Yasmin Binti Othman
8. Puan Nor Hidayah Binti Ismail
9. Puan Haryana Rozana Binti Abdul Rahim
10. Cik Wong Kar Cheng

TEMPOH PROJEK:

TARIKH MULA: 17/08/2022

TARIKH TAMAT: 16/06/2023

TARIKH LANJUT: 17/09/2023

NO. MEMORANDUM. :

JBK-UM/100/2/2/5

JUMLAH NILAI ANUGERAH:

RM 150,000.00[#]

[#]Peruntukan perbelanjaan telah dilampirkan di dalam Lampiran.

PENGHARGAAN

Kajian ini dibiayai oleh Jabatan Biokeselamatan, Kementerian Sumber Asli, Alam Sekitar dan Perubahan Iklim, Malaysia. (Tajuk Projek: Kajian Pembangunan Kaedah Pengesanan Pantas Organisma Diubahsuai Genetik (GMO) dan Produk GMO dalam Makanan Ruji; Kod Projek: JBK-UM/100/2/2/5).

SENARAI KANDUNGAN

1	RINGKASAN EKSEKUTIF	1
1.1	Objektif-objektif	1
1.2	Kerahsiaan & Perlindungan Data	2
1.3	Hasil yang Dijangka	2
1.4	Had yang Terdapat dalam Penilaian	2
2	Pengenalan.....	3
2.1	Living Modified Organism (<i>LMO</i>)	6
2.2	Metod dan Mekanisme untuk Manipulasi Genetik	8
2.3	Keselamatan, Risiko, dan Kebimbangan Awam Mengenai <i>LMO</i>	10
2.4	Perundangan dan Regulasi Terkait <i>LMO</i>	13
2.5	Kaedah-Kaedah dalam Pengesanan <i>LMO</i>	15
2.6	Ujian Loop-Mediated Isothermal Amplification (<i>LAMP</i>)	17
3	METODOLOGI.....	19
3.1	Keseluruhan Projek	19
3.2	Rancangan Projek	21
3.3	Perincian Penerangan Tugas	22
3.3.1	Tugas 1: Perancangan	22
3.3.2	Tugas 2: Pengekstrakan <i>DNA</i> daripada Makanan Asas	22
3.3.3	Tugas 3: Pembangunan Ujian <i>LAMP</i>	26
3.3.4	Tugas 4: Penentuan Sensitiviti dan Spesifisiti	27
3.3.5	Tugas 5: Penyampaian Laporan Akhir	28
4	DATA DAN HASIL EKSPERIMENTAL.....	29
4.1	Perbincangan tentang Kerja	29
4.2	Data Eksperimen dan Hasil – Fasa 1: Pengoptimuman Pengekstrakan <i>DNA</i>	30
4.3	Prototaip Terakhir – Kit Pengekstrakan <i>DNA</i> (Kaedah A dan C).....	44
4.4	Data Eksperimen dan Hasil – Fasa 2: Pembangunan Ujian <i>LAMP</i>	52
4.5	Prototaip Akhir – Kit Ujian Loop-mediated Isothermal Amplification (<i>LAMP</i>).....	57
4.6	Data Eksperimental dan Hasil – Fasa 3: Penentuan Sensitiviti dan Spesifisiti Kit Ujian <i>LAMP</i>	64

5	Perbincangan.....	72
5.1	Konseptualisasi, Reka Bentuk Kerangka, dan Pengumpulan Sampel....	72
5.2	Prototaip Terakhir – Kit Pengestrakan <i>DNA</i> (Kaedah A dan C).....	72
5.3	Prototaip Akhir – Kit Ujian <i>LAMP</i>	74
5.4	Sensitiviti dan Spesifisiti Kit Ujian <i>LAMP</i>	75
6	KESIMPULAN.....	77
	RUJUKAN.....	79
	APPENDIKS.....	88
	Appendiks 1 Jadual.....	88
	Appendiks 2 Penyerahan	89
	Appendiks 3 Buget.....	90
	Appendiks 4 Senarai Sampel.....	91
	Appendiks 5 Minit Mesyuarat.....	95
	Appendiks 6 Pengenalan Penyelidik-penyelidik	108

SENARAI JADUAL

Jadual 1.1	Senarai had dan langkah untuk mengatasi dalam kajian ini ...	2
Jadual 4.1	Anggaran kepekatan dan nisbah penyerapan 260/280 bagi sampel berdasarkan beberapa kaedah pengekstrakan DNA.....	33–34
Jadual 4.2	Anggaran kepekatan dan nisbah penyerapan 260/280 sampel pada 24, 48, dan 72 jam selepas eksperimen.....	35–39
Jadual 4.3	Penilaian kestabilan sampel DNA yang diekstrak berdasarkan suhu penyimpanan yang berbeza.....	40
Jadual 4.4	Penilaian bagi kaedah pengekstrakan DNA.....	41–43
Jadual 4.5	Kandungan kit pengekstrakan DNA (Kaedah A dan C).....	46
Jadual 4.6	Senarai elemen LMO terpilih yang menjadi sasaran untuk pembangunan ujian LAMP.....	54
Jadual 4.7	Rincian eksperimental dari ujian LAMP untuk deteksi CaMV P35S.....	55
Jadual 4.8	Rincian esperimental dari Ujian LAMP untuk deteksi T-os.....	56
Jadual 4.9	Kandungan kit ujian LAMP.....	59
Jadual 4.10	Komponen-komponen reagen dalam tindak balas LAMP	61
Jadual 4.11	Spesifisiti ujian LAMP pada sampel makanan yang disediakan	69

SENARAI RAJAH

Rajah 2.1	<i>Cartagena Protocol on Biosafety</i>	13
Rajah 2.2	<i>Biosafety Act of Malaysia – Biosafety Act 2007 (Act 678)</i>	14
Rajah 2.3	Lokasi dan kawasan sasaran <i>primer LAMP</i>	17
Rajah 3.1	Gambaran keseluruhan fasa kajian (Fasa 1 - 4).....	19
Rajah 3.2	Luaran projek	21
Rajah 3.3	Carta aliran kaedah pengekstrakan <i>DNA A</i>	23
Rajah 3.4	Carta aliran kaedah pengekstrakan <i>DNA B</i>	24
Rajah 3.5	Carta aliran kaedah pengekstrakan <i>DNA A</i>	25
Rajah 4.1	Alat pengisar yang digunakan untuk penyediaan sampel.....	30
Rajah 4.2	Penyediaan sampel makanan asas	31
Rajah 4.3	Penyusunan kit pengekstrakan <i>DNA</i> (Kaedah A dan C).....	44
Rajah 4.4	Diagram alir ekstraksi <i>DNA</i> Kaedah A	48
Rajah 4.5	Diagram alir ekstraksi <i>DNA</i> Kaedah C.....	49
Rajah 4.6	Garis panduan kit pengekstrakan <i>DNA</i> (Kaedah A).....	50
Rajah 4.7	Garis panduan kit pengekstrakan <i>DNA</i> (Kaedah C).....	51
Rajah 4.8	Senarai peristiwa tanaman <i>GM</i> yang diluluskan	52–53
Rajah 4.9	Susunan kit ujian <i>loop-mediated isothermal amplification (LAMP)</i>	57
Rajah 4.10	Carta aliran kit ujian <i>LAMP</i>	62
Rajah 4.11	Gambaran keseluruhan manual untuk kit ujian <i>LAMP</i>	63
Rajah 4.12	Representasi skematik vektor ekspresi tumbuhan <i>pCambia1304</i>	64
Rajah 4.13	Koloni-koloni bakteria mengandungi vektor ekspresi tumbuhan <i>pCambia1304</i>	65
Rajah 4.14	Hasil ujian awal kit ujian <i>LAMP</i>	66
Rajah 4.15	Sensitiviti kit ujian <i>LAMP</i> untuk pengesanan <i>CaMV P35S</i>	67
Rajah 4.16	Sensitiviti kit ujian <i>LAMP</i> untuk pengesanan <i>T-Nos</i>	68
Rajah 4.17	Spesifisiti ujian <i>LAMP</i> untuk pengesanan elemen <i>LMO CaMV P35S</i>	70
Rajah 4.18	Spesifisiti ujian <i>LAMP</i> untuk pengesanan elemen <i>LMO T-Nos</i>	71

SENARAI SINGKATAN

<i>B3</i>	: <i>Reverse outer primer</i>
<i>BIP</i>	: <i>Reverse inner primer</i>
<i>BLP</i>	: <i>Reverse loop primer</i>
<i>CaMV P35S</i>	: <i>Cauliflower mosaic virus 35S promoter</i>
<i>dNTP</i>	: <i>Deoxynucleotide</i>
<i>EDTA</i>	: <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
<i>ELISA</i>	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
<i>F3</i>	: <i>Forward outer primer</i>
<i>FIP</i>	: <i>Forward inner primer</i>
<i>FLP</i>	: <i>Forward loop primer</i>
<i>LAMP</i>	: <i>Loop-mediated isothermal amplification</i>
<i>LMO</i>	: <i>Living modified organism</i>
<i>MAFI</i>	: <i>Ministry of Agriculture and Food Industries</i>
<i>MgSO₄</i>	: <i>Magnesium sulfate</i>
<i>NaOH</i>	: <i>Sodium hydroxide</i>
<i>NGS</i>	: <i>Next-generation sequencing</i>
<i>NTC</i>	: <i>Negative template control</i>
<i>PC</i>	: <i>Positive control</i>
<i>PCR</i>	: <i>Polymerase chain reaction</i>
<i>qPCR</i>	: <i>Real-time PCR</i>
<i>T-Nos</i>	: <i>Nopaline synthase terminator</i>

BAB 1

RINGKASAN EKSEKUTIF

Laporan terkini daripada Kementerian Pertanian dan Industri Makanan (MAFI), Malaysia, melaporkan bahawa tahap sara diri negara dalam pengeluaran beras pada masa ini adalah sebanyak 72%, dan bagi mengekalkan serta memastikan bekalan makanan negara terjamin, Malaysia telah mengimport sebanyak 30-40% daripada makanan asas sepanjang 20 tahun yang lepas. Memantau makanan *living modified organisms (LMO)* yang diimport adalah satu proses yang memakan masa dan mahal, maka diperlukan ujian yang cepat dan mudah yang boleh digunakan di tempat koleksi. Oleh itu, dengan mengambil kira kesihatan awam, keselamatan makanan, dan keselamatan alam sekitar, projek ini bertujuan untuk mengembangkan ujian *loop-mediated isothermal amplification (LAMP)* untuk pengesanan cepat di tempat koleksi *LMO* dalam makanan asas yang diimport ke Malaysia.

1.1 Objektif-objektif

Objektif-objektif kajian adalah seperti berikut:

1. Menentukan kaedah pengekstrakan asid nukleik optimum bagi beras, jagung, dan gandum *LMO* yang diimport ke Malaysia.
2. Membangunkan kit ujian *LAMP* secara kualitatif untuk mengesan variasi *LMO* bagi beras, jagung, dan gandum yang diimport ke Malaysia.
3. Menentukan sensitiviti dan spesifisiti kit ujian *LAMP* yang telah dibangunkan.

1.2 Kerahsiaan & Perlindungan Data

Hasil daripada projek ini diuruskan dengan mematuhi dasar perlindungan data Malaysia. Pihak berkepentingan telah diarahkan untuk menghubungi pasukan projek sekiranya terdapat pertanyaan mengenai perlindungan data. Kontrak ini terikat oleh peruntukan kerahsiaan dalam kontrak rangkaian. Peruntukan ini merupakan sebahagian daripada subkontrak dan terpakai kepada semua pihak yang terlibat dalam projek.

1.3 Hasil yang Dijangka

Hasil dari kajian ini adalah pembangunan ujian *LAMP* untuk pengesanan pengubahsuaian genetik tertentu dalam beras, jagung, dan gandum *LMO*. Ujian ini adalah mudah, cepat, dan boleh dilakukan di tempat koleksi. Hasil positif yang diperoleh dari ujian *LAMP* telah disahkan di dalam makmal. Hasil keseluruhan projek ini menyokong kerajaan dalam pemantauan bijirin yang diimport dan pengesahan kewujudan import *LMO*, membolehkan pengesahan bahawa makanan asas *LMO* yang diimport dan makanan ternakan yang diperlukan adalah variasi yang diluluskan, selaras dengan Dasar Biokeselamatan Malaysia.

1.4 Had yang Terdapat dalam Penilaian

Jadual 1.1. Senarai had dan langkah untuk mengatasi dalam kajian ini.

Had kepada Penilaian	Langkah untuk mengatasi
Kehendak peralatan makmal khas untuk mengekstrak asid nukleik (selanjutnya dirujuk sebagai <i>DNA</i>) dari sampel makanan asas di tempat koleksi	Alat pengisar mudah alih saiz kira-kira (15 x 4 cm), inkubator, dan pengepul akan dibawa bersama.

BAB 2

PENGENALAN

Selama bertahun-tahun, terdapat peningkatan yang besar dalam kelimpahan dan ketersediaan *living modified organisms (LMO)*. Sebahagian besar tanaman dalam sektor pertanian mengalami peningkatan dalam peratusan ini. Penuaian genetik tanaman membolehkan kelebihan dalam menghasilkan hasil yang lebih baik dengan ciri-ciri lain, termasuk ketahanan terhadap serangga, toleransi terhadap herba, ketahanan terhadap penyakit, dan toleransi terhadap perubahan iklim (Seid & Andualem, 2021; Smyth, 2020; Van Acker *et al.*, 2017; Van Esse *et al.*, 2020). Di Malaysia, beras adalah makanan asas utama yang dikonsumsi. Makanan lain seperti jagung dan gandum juga merupakan komponen penting dalam diet Malaysia sebagai makanan asas. Kebanyakan rakyat Malaysia mengambil beras setiap hari, sama ada sebagai beras masak atau dalam bentuk tepung beras. Pada tahun 2019, Kementerian Pertanian dan Industri Makanan (MAFI) melaporkan bahawa tahap kemandirian negara dalam pengeluaran beras adalah sebanyak 72%. Oleh itu, import beras adalah penting untuk menjamin bekalan makanan negara ini, di mana kira-kira 30-40% beras untuk penggunaan tempatan telah diimport setiap tahun selama 20 tahun terakhir. Demikian juga, laporan dari *Global Agricultural Information Network* oleh *USDA Foreign Agricultural Service* pada tahun 2019 menunjukkan bahawa import Malaysia bagi penggunaan manusia dan makanan ternakan jagung, serta gandum, telah menunjukkan trend peningkatan berbanding tahun-tahun sebelumnya (Baharudin & Waked, 2021; Nodin *et al.*, 2002a; Nodin *et al.*, 2002b; Noor *et al.*, 2002).

Walaupun banyak negara lain mengimport produk *LMO*, Malaysia memberikan penekanan besar kepada kesejahteraan rakyatnya dan alam sekitar (Kalidasan & Theva, 2021; Singh *et al.*,

2020). Terdapat peraturan yang ketat di bawah Akta Biokeselamatan Malaysia 2007 mengenai import produk *LMO*, termasuk varieti beras *LMO*. Ketersediaan kaedah pengesanan yang sesuai, bahan kawalan untuk pengesanan, dan maklumat mengenai elemen genetik yang diperkenalkan adalah penting untuk pengesanan mana-mana *LMO*. Ketersediaan protokol pengesanan di tempat koleksi akan sangat memudahkan penguatkuasaan peraturan yang berkaitan dengan import *LMO*. Langkah-langkah ini dapat memberikan sokongan dan keyakinan yang lebih kukuh bagi penerimaan *LMO* oleh petani dan pengguna melalui undang-undang dan peraturan yang mengawal amalan biokeselamatan, untuk penggunaan selamat produk-produk ini ke atas manusia, haiwan, dan alam sekitar (Hougs *et al.*, 2019; Zilberman *et al.*, 2018). Pada masa ini, tiada protokol atau kaedah pengesanan di tempat koleksi yang boleh dipercayai.

Oleh itu, dalam kajian ini, matlamat kami adalah untuk mengembangkan ujian *loop-mediated isothermal amplification (LAMP)* yang pantas untuk pengesanan *LMO* di dalam makanan asas yang diimport ke Malaysia. Ujian *LAMP* ini bertujuan untuk mengesan kehadiran atau ketiadaan gen-gen tertentu yang diperkenalkan ke dalam bijirin dan makanan ternakan ini. Kami yakin bahawa ujian ini akan menyediakan kaedah yang cepat dan mudah alih, yang boleh dilakukan dengan mudah di tempat pengumpulan sampel tanpa memerlukan kepakaran makmal yang khusus. Kit ujian yang sedang dibangunkan ini akan menjadi yang pertama di Malaysia dalam kategorinya. Kami juga yakin bahawa kit ini boleh berfungsi sebagai garisan pertama penyaringan untuk pengesanan *LMO* dalam makanan asas. Walaubagaimanapun, perlu diingatkan bahawa pengesanan lanjut dengan *PCR* akan diperlukan untuk pengesanan kehadiran pengubahsuaian genetik dalam *LMO*. Walaupun begitu, ketersediaan kit ujian pantas ini akan memudahkan proses penguatkuasaan undang-undang dengan lebih efisien dan menjimatkan kos.

Senarai makanan asas yang telah mengalami ubahsuai genetik (termasuk beras, jagung, dan gandum) yang menjadi tumpuan untuk import ke Malaysia akan diperolehi daripada pihak berkuasa yang berkenaan. Kaedah pengekstrakan asid nukleik akan diperbaiki untuk memastikan penghasilan *DNA* yang berkualiti tinggi dan berkepekatan tinggi, terutamanya di tempat pengumpulan sampel, serta untuk mengelakkan sebarang penonaktifan protokol *PCR* oleh perencat yang mungkin terdapat dalam sampel biologi mentah. *Primer LAMP* yang direka khas untuk mengenal pasti jujukan gen yang telah diubahsuai secara spesifik telah dibangunkan dengan menggunakan alat rekaan *primer* berasaskan web seperti *Primer-BLAST*. Ujian *LAMP* yang telah dibangunkan menggunakan *primer* ini akan disahkan di dalam makmal untuk memastikan spesifisiti dan sensitiviti, termasuk had pengesanan. Protokol *LAMP* ini akan membolehkan pengesanan yang cepat dan efisien mengenai kewujudan variasi *LMO* dalam makanan asas tertentu yang diimport ke dalam negara ini. Usaha ini adalah penting dalam usaha untuk mengawal kemasukan *LMO* yang tidak dibenarkan dan variasi *LMO* yang tidak mendapat kelulusan yang menjadi isu keselamatan biologi. Ini kerana pengenalan yang tidak sengaja dalam alam sekitar dan pertumbuhan variasi *LMO* tersebut di Malaysia boleh membawa kepada masalah kesihatan dan masalah lain yang serius.

2.1 Living Modified Organism (LMO)

Living modified organism (LMO; sinonim dengan *genetic modified organism (GMO)*) boleh didefinisikan sebagai mana-mana organisma (iaitu, mikroorganisma, haiwan, atau tumbuhan) yang bahan genetiknya (*DNA*) telah diubah dengan cara yang tidak berlaku secara semulajadi melalui perkahwinan dan/atau rekombinasi semula jadi (World Health Organization (WHO), 2014).

Pembangunan teknologi modifikasi *DNA* dibina berdasarkan puluhan tahun yang lalu, sejak 1944, ketika ahli sains menemui bahawa *DNA* boleh dipindahkan melintasi spesies (Avery *et al.*, 1944). Sejak itu, pelbagai pendekatan dalam bidang bioteknologi telah dibangunkan dengan tujuan untuk memindahkan gen dari satu organisma ke organisma yang lain atau mengubah gen yang sedia ada dalam suatu organisma tersebut. Pada tahun 1983, tembakau yang tahan antibiotik menjadi tumbuhan pertanian pertama yang diubahsuai secara genetik dan dilaporkan oleh tiga kumpulan penyelidik yang berbeza. Pada tahun 1994, *Food and Drug Administration (FDA)* meluluskan dan mengkomersialkan tomato *Flavr Savr* pertama yang diubahsuai secara genetik dalam ujian, dengan ciri-ciri seperti pematangan lewat yang memberikannya jangka hayat yang lebih panjang. Sejak itu, makanan yang diubahsuai secara genetik dengan pelbagai ciri-ciri telah muncul di pasaran, termasuk canola dengan komposisi minyak yang diubah, jagung/ubi *Bacillus thuringiensis (Bt)*, serta kapas dan kacang soya yang tahan herba (Bawa & Anilakumar, 2013).

Secara khusus, pertanian tanaman yang diubah secara genetik telah menjadi salah satu sektor yang berkembang pesat dalam industri pertanian, berkat kemajuan dalam bidang bioteknologi. Pada tahun 2019, sebanyak 190.4 juta hektar tanaman yang diubahsuai secara genetik telah ditanam oleh lebih daripada 17 juta petani di 29 negara di seluruh dunia (Abdul

Aziz *et al.*, 2022). Komitmen-komitmen ini memainkan peranan penting dalam menangani permintaan makanan yang semakin meningkat di kalangan penduduk yang berkembang, mengatasi masalah penurunan tanah yang sesuai untuk pertanian, menghadapi cabaran perubahan iklim global dan bencana alam, serta mengurangkan kenaikan kos input dalam pengeluaran makanan (Oliver, 2014; Zilberman *et al.*, 2018). Selain itu, pembiakan tradisional yang bergantung pada persilangan seks semula jadi untuk memperkenalkan sifat/gen baru ke dalam organisma, adalah terhad dan tidak dapat mengekalkan permintaan penduduk yang meningkat bagi makanan, kerana masa generasi mengambil masa bertahun-tahun (Oliver, 2014). Sebaliknya, pembiakan moden meningkatkan tanaman dengan menggunakan sumber tenaga tinggi seperti bahan kimia atau radiasi untuk menginduksi variasi mutasi baru. Walau bagaimanapun, kemungkinan untuk memperoleh tanaman dengan ciri-ciri yang lebih baik sering berlaku secara kebetulan dan oleh itu tidak dipilih untuk penciptaan makanan yang diubahsuai secara genetik (Oliver, 2014).

Dengan jangkaan bahawa penduduk global akan mencapai hampir 10 bilion pada tahun 2050, tindakan segera harus diambil untuk memastikan keselamatan dan kelestarian makanan, dengan menstabilkan pengeluaran dan bekalan makanan untuk memenuhi permintaan yang meningkat (Tyczewska *et al.*, 2023).

2.2 Metod dan Mekanisme untuk Manipulasi Genetik

Dalam beberapa dekad yang lepas, kemajuan bioteknologi moden telah membenarkan penciptaan dan penggunaan *LMO* dalam pelbagai industri. Pelbagai pendekatan bioteknologi telah dibangunkan dan digunakan untuk mengubah dan manipulasi organisma (National Research Council, 2004; Zhang *et al.*, 2016).

Kejuruteraan genetik, juga dikenali sebagai pengubahsuaian genetik atau manipulasi genetik, merujuk pada perubahan langsung dalam *DNA* genom organisma untuk mengubah ciri-cirinya. Sebagai contoh, biolistik, atau peluru berbondam, adalah pendekatan umum yang digunakan untuk transformasi genetik tanaman, di mana fragmen *DNA* asing dibina dengan partikel logam berat dan dihantar dengan kecepatan tinggi ke dalam sel tanaman (Kikkert *et al.*, 2005). Pendekatan lain menggunakan vektor mikrob, seperti *Agrobacterium tumefaciens*, untuk pemindahan gen ke dalam tanaman. Bakteria ini adalah agen kejuruteraan genetik semulajadi yang mampu menghantar gen plasmidnya ke dalam sel tanaman dan mengintegrasikannya ke dalam genom nuklear tanaman (Gelvin, 2003; Hwang *et al.*, 2017).

Penyuntingan gen adalah satu lagi bidang penyelidikan dalam pengubahsuaian *DNA*. Berbeza dengan pengubahsuaian gen, penyuntingan gen tidak melibatkan pengenalan *DNA* asing dari spesies lain atau antara spesies, tetapi mengubah bahan genetik asli organisma itu sendiri. Perubahan *DNA* dapat dicapai dengan penjaan putus rangkaian berganda oleh nuklease di lokasi yang ditargetkan, yang kemudiannya dapat diperbaiki melalui penyambungan hujung bukan homologus atau penyelarasan hujung bukan homologus, menghasilkan gangguan gen (contohnya, penghapusan atau penyisipan) atau integrasi dengan *DNA* pemberi sumbangan sebagai templat, masing-masing. Contoh *genome editing nucleases* yang diketahui umum termasuk *meganucleases*, *zinc-finger nucleases (ZFNs)*, *transcription*

activator-like effector nucleases (TALEN) and clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)-associated 9 (Cas9) (Adli, 2018).

Biologi sintetik adalah satu evolusi baru dalam inovasi yang mengembangkan konsep kejuruteraan genetik dengan membuat perubahan dalam seluruh komponen atau laluan genetik organisma. Konsep ini menggunakan dan menggabungkan teknik bioteknologi sedia ada untuk merancang dan membina struktur asid nukleik kod genetik dan memperkenalkan komponen yang disintesis secara buatan ini ke dalam organisma. Pendekatan ini telah menarik perhatian besar para saintis kerana mereka kini memiliki kemampuan untuk "merekabentuk" kod *DNA* untuk membangunkan organisma baru atau menyusun semula organisma yang sedia ada dengan fungsi yang diinginkan (Lv *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2013).

Teknologi-teknologi ini memungkinkan para saintis untuk mencipta *LMO* dengan ciri-ciri yang diinginkan dan khas, seperti ketahanan yang meningkat terhadap serangga dan penyakit, kandungan pemakanan yang lebih tinggi, atau kemampuan yang ditingkatkan untuk menghasilkan bahan berharga. Sebagai contoh, tanaman yang telah diubah suai secara genetik telah banyak digunakan dalam pertanian untuk meningkatkan ketahanan terhadap serangga dan/atau meningkatkan hasil tanaman (Anderson *et al.*, 2019). Selain itu, mikroorganisma yang telah diubah suai secara genetik digunakan dalam pengeluaran produk farmaseutikal dan enzim makanan (Deckers *et al.*, 2020; Zhou & Han, 2022), sementara haiwan yang telah diubah suai secara genetik dicipta untuk tujuan penyelidikan perubatan (Rogers, 2016).

2.3 Keselamatan, Risiko, dan Kebimbangan Awam Mengenai LMO

Walaupun *LMO* telah digunakan secara meluas untuk pelbagai aplikasi, termasuk pertanian dan perubatan, keselamatan, risiko, dan kebimbangan awam yang berkaitan dengan penggunaannya telah menjadi topik perdebatan dan pembangunan dasar awam dan peraturan (Bawa & Anilakumar, 2013).

Kebimbangan keselamatan telah diutarakan mengenai *LMO* berhubung isu-etika, serta risiko terhadap kesihatan manusia dan alam sekitar. Kebanyakan pandangan etika mengenai *LMO* berpusat pada gagasan bahawa pengubahsuaian genetik organisma hidup adalah sesuatu yang tidak semulajadi dan tidak seharusnya mengganggu susunan semula jadi dengan menggunakan pendekatan bioteknologi (Hallman *et al.*, 2003). Terdapat juga kebimbangan (contohnya, toksin, alergen, atau bahaya genetik) bahawa *LMO* boleh menimbulkan risiko terhadap kesihatan manusia. Sebagai contoh, *LMO* yang dibangunkan untuk digunakan sebagai makanan mungkin mengandungi alergen yang pada asalnya tidak terdapat dalam versi yang tidak diubahsuai (Conner & Jacobs, 1999; Lee *et al.*, 2017) yang boleh membahayakan pengguna yang mempunyai sejarah alergi. Selain itu, ada yang berpendapat bahawa *LMO* juga mungkin menimbulkan risiko yang diabaikan terhadap alam sekitar. Sebagai contoh, mereka mungkin bersepadu dengan saudara-saudara jenis liar mereka dan menghasilkan keturunan hibrid dengan akibat yang tidak dijangka dan tidak dijangka, seperti pengenalan sifat baru ke alam sekitar yang boleh menyebabkan saudara-saudara jenis liar mengalami kemerosotan tempatan atau menjadi pupus (Bauer-Panskus *et al.*, 2020).

Beberapa risiko yang berkaitan dengan *LMO* juga telah menjadi subjek perdebatan aktif, terutamanya kesan yang tidak diinginkan dan peningkatan ketahanan terhadap penyakit dan serangga. Seperti yang disebutkan sebelum ini, terdapat kebimbangan mengenai potensi kesan

yang tidak diingini daripada pengenalan *LMO* ke dalam alam sekitar. Sebagai contoh, tanaman yang diubah suai secara genetik mungkin mempunyai kesan buruk terhadap alam sekitar dengan mempengaruhi organisma bukan sasaran, atau ia mungkin menjadi invasif dan mengganggu stabiliti ekosistem tempatan (Key *et al.*, 2008). Selanjutnya, juga ada ketakutan bahawa penggunaan *LMO* mungkin akan menyebabkan perubahan evolusi yang menyebabkan serangga atau penyakit mendapatkan ketahanan yang ditingkatkan yang asalnya ditargetkan oleh pengubahsuaian genetik (Bawa & Anilakumar, 2013).

Dalam hal kebimbangan awam mengenai *LMO*, terdapat permintaan yang kuat untuk penyertaan awam dalam isu-isu yang berkaitan dengan pengawalseliaan *LMO*. Tegangan ini telah menghasilkan peraturan yang ketat dan terperinci berkaitan dengan ujian dan penandaan *LMO* untuk memastikan keselamatan mereka terhadap kesihatan manusia dan alam sekitar (Bawa & Anilakumar, 2013). Selain itu, hujah telah diajukan bahawa pengguna mempunyai hak untuk mendapatkan maklumat mengenai makanan *LMO* dan untuk mengetahui sama ada makanan yang mereka makan telah diubah suai secara genetik, dengan ini menuntut sistem penandaan wajib untuk *LMO* dan produk-produknya (Du, 2014). Di sisi lain, juga terdapat kebimbangan mengenai harta intelek, dan pemilikan organisma yang dicipta dan/atau teknik yang digunakan untuk menciptakannya. Konsep perlindungan IP dan pemilikan paten boleh menggalakkan budaya kerahsiaan dalam komuniti saintifik yang akan menyekat akses kepada data/pemindahan teknologi oleh petani kecil atau negara membangun (Kropiwnicka, 2005).

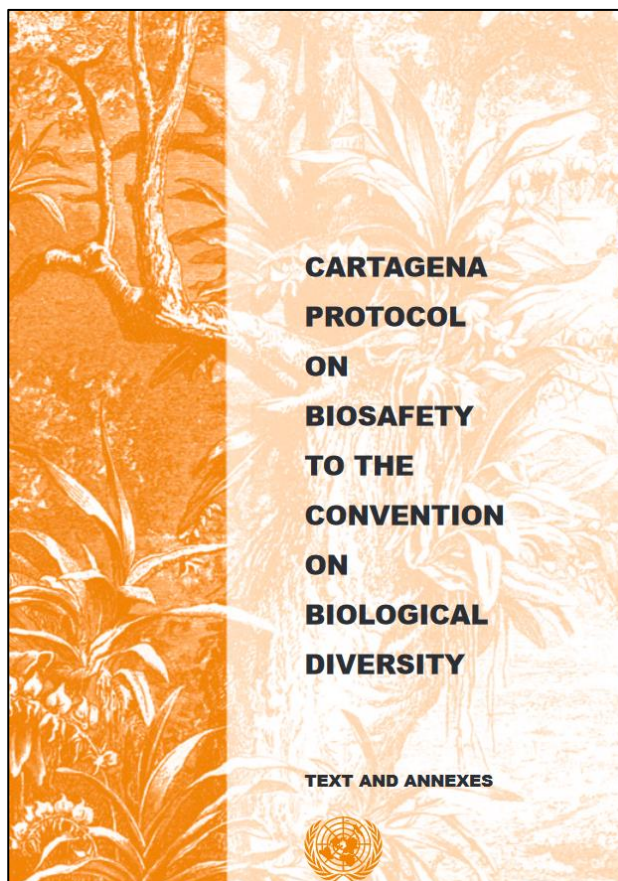
Secara keseluruhan, walaupun *LMO* mempunyai potensi untuk memberikan pelbagai manfaat, seperti hasil tanaman yang lebih tinggi dan pengurangan penggunaan racun serangga, namun, terdapat juga kebimbangan keselamatan, risiko, dan kebimbangan awam yang berkaitan dengan pelaksanaan mereka. Oleh itu, adalah sangat penting bagi saintis, pembuat

dasar, dan orang awam untuk mengkaji dan menilai dengan berhati-hati isu-isu ini berkaitan dengan pembangunan dan penggunaan *LMO*.

2.4 Perundangan dan Regulasi Terkait LMO

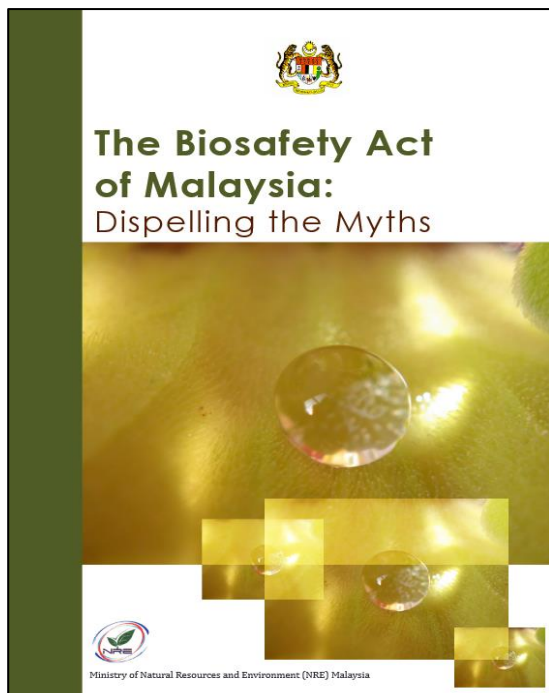
Berdasarkan risiko yang berpotensi berkaitan dengan LMO yang boleh membahayakan alam sekitar dan kesihatan manusia, beberapa perundangan dan regulasi antarabangsa, serantau, dan kebangsaan telah diwujudkan dan dilaksanakan untuk menguruskan penggunaan, import, dan pelepasan LMO.

Cartagena Protocol on Biosafety, sebagai contoh, adalah salah satu perjanjian antarabangsa yang paling penting yang diadopsi untuk memastikan pemindahan, pengendalian, dan penggunaan LMO yang selamat. Ia merupakan perjanjian antarabangsa yang menetapkan protokol untuk import dan eksport LMO dari satu negara ke negara lain, dan memerintahkan negara-negara untuk mengambil langkah berjaga-jaga untuk mencegah atau mengurangkan risiko terhadap alam sekitar dan kesihatan manusia (Sendashonga *et al.*, 2005) (Rajah 2.1).



Rajah 2.1. *Cartagena Protocol on Biosafety*. Sumber: <https://bch.cbd.int/protocol/>.

Selain itu, kebanyakan negara juga telah melaksanakan undang-undang dan peraturan mereka sendiri berkaitan dengan *LMO*, yang dikenali sebagai Undang-Undang Bioselamat Nasional. Sebelum *LMO* boleh dilepaskan ke alam sekitar atau digunakan untuk tujuan komersial, kelulusan dan kelulusan daripada badan-badan pengawalseliaan sering diperlukan di bawah peraturan-peraturan undang-undang ini. Di Malaysia, Akta Bioselamat Malaysia - Akta Bioselamat 2007 (Akta 678), telah dilaksanakan yang bertujuan untuk mengawalselia pelepasan, pengimportan, pengeksportan, dan penggunaan terkandung *LMO*, serta pelepasan produk yang berasal dari organisma tersebut, dengan objektif melindungi kesihatan manusia, tumbuhan, dan haiwan, alam sekitar, dan kepelbagaian biologi (Laws of Malaysia, 2007) (Rajah 2.2).



**Rajah 2.2. Biosafety Act of Malaysia –
Biosafety Act 2007 (Act 678).** Sumber:

<https://www.nrecc.gov.my/ms-my/pustaka/media/Penerbitan/TheBiosafetyActofMalaysia202008.pdf>

Secara keseluruhan, perundangan dan regulasi yang mengawal *LMO* bertujuan untuk memastikan bahawa risiko-risiko yang mungkin timbul daripada *LMO* dinilai dengan teliti dan langkah-langkah dan tindakan yang sewajarnya diambil untuk mengurangkan atau mengatasi risiko-risiko yang mungkin tersebut.

2.5 Kaedah-Kaedah dalam Pengesanan LMO

Pencegahan pengimportan *LMO* yang tidak dibenarkan dan pengimportan varian *LMO* yang tidak diluluskan adalah sangat penting, kerana ia membabitkan isu keselamatan biologi. Ini kerana, ia boleh menyebabkan ancaman kepada kesihatan manusia dan alam sekitar, akibat daripada pengenalan secara tidak sengaja ke dalam alam sekitar dan pertumbuhan tanpa kawalan varian-varian tersebut. Oleh itu, kaedah-kaedah pengesanan yang boleh dipercayai dan sensitif untuk pengesanan *LMO* adalah penting. Terdapat beberapa pendekatan yang telah dibangunkan dan digunakan secara meluas untuk pengesanan *LMO*, seperti *polymerase chain reaction (PCR)*, *microarrays*, *enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*, serta *next-generation sequencing (NGS)*.

PCR adalah teknik analitikal yang dapat menghasilkan dengan cepat berbilion salinan bagi suatu rantau *DNA* tertentu. Teknik ini menggunakan kemampuan enzim *DNA* polimerase untuk memilih suatu segmen genom untuk dipertingkatkan, dan untuk mensintesis rantai *DNA* baru yang komplementari terhadap rantai templat. Kepekaan dan kekhususan yang tinggi dalam teknik berasaskan *PCR* (termasuk *conventional PCR* and *real-time PCR (qPCR)*) menjadikan mereka kaedah pilihan untuk pengesanan *LMO*. Kaedah-kedah ini sering digunakan untuk menyaring kehadiran *DNA* transgenik dalam sampel dengan menargetkan konstruk transgenik dan urutan *DNA* tapak penyisipan (Eum *et al.*, 2019; Randhawa *et al.*, 2016; Safaei *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2021).

Microarrays (juga dikenali sebagai *biochips*) terdiri daripada cip yang mengandungi ribuan urutan *DNA* sintetik, tunggal berpintalan yang dikenali sebagai probe. Probe-probe ini berhibrid dengan urutan *DNA* tertentu yang khusus dan diarahkan. Hibridisasi antara probe dan sasaran biasanya dikesan dan diukur menggunakan sasaran yang diberi penanda *fluorophore*,

silver, atau *chemiluminescence* untuk menentukan jumlah relatif transkrip yang hadir dalam sampel. Teknik ini membolehkan penyaringan cepat dan berkapasiti tinggi bagi beberapa sampel secara serentak. Dalam pengesanan *LMO*, mikromarray direka dengan probe yang mengenali kehadiran gen transgenik dalam *LMO*, dengan merangkakkan *DNA* transgenik kepada probe pada cip (Leimanis *et al.*, 2006).

ELISA adalah kaedah analitikal yang menggunakan antibodi untuk mengesan kehadiran ligan-ligan tertentu, seperti antigen, peptida, protein, atau molekul-molekul. Kaedah berasaskan *ELISA* juga sangat sensitif dan khusus. Dalam pengesanan *LMO*, *ELISA* boleh digunakan untuk mengenal pasti secara kualitatif atau semi-kualitatif kehadiran gen transgenik atau protein yang dihasilkan oleh *DNA* transgenik dalam sampel (Gampala *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2022).

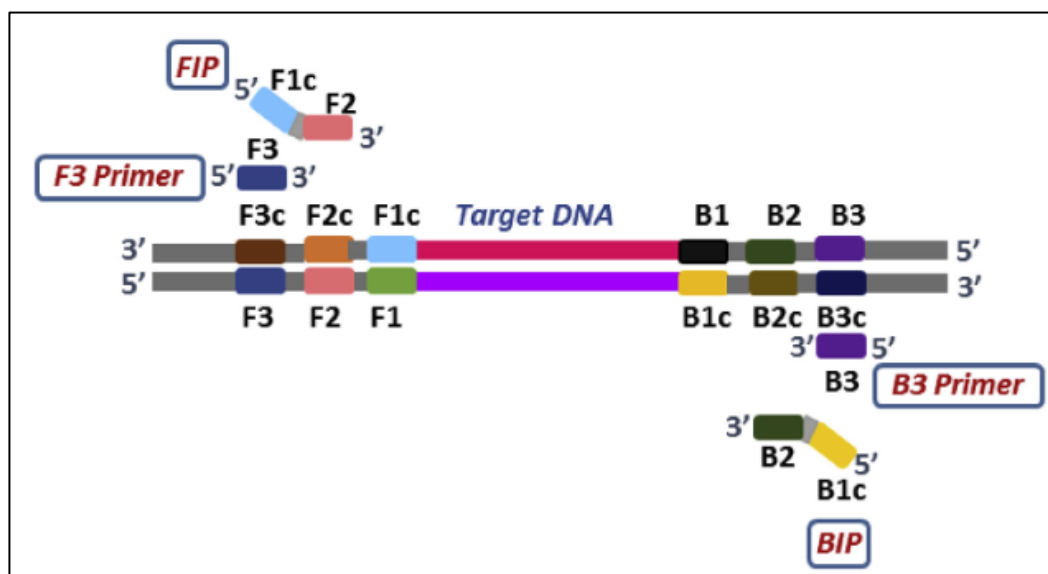
NGS adalah kaedah pengurutan yang berkapasiti tinggi untuk mengurutkan *DNA* atau *RNA* secara besar-besaran untuk mengkaji kandungan genetik. Urutan-urutan boleh merangkumi genom keseluruhan organisma, subseksyen gen, atau kawasan-kawasan sasaran yang tertentu. Dengan membandingkan urutan yang dikesan dalam sampel dengan pangkalan data urutan *LMO* yang diketahui, atau urutan asal, *NGS* dapat mengenal pasti *DNA* transgenik yang hadir dalam *LMO* (Debode *et al.*, 2019; Saltykova *et al.*, 2022).

Secara umumnya, pendekatan-pendekatan ini telah memudahkan penubuhan kaedah-kaedah yang boleh dipercayai dan cekap untuk mengesan kehadiran *LMO* dalam pelbagai produk. Pilihan pendekatan ini sebahagiannya bergantung kepada jenis sampel, tahap kepekaan dan kekhususan yang diperlukan, serta ketersediaan sumber.

2.6 Ujian *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP)

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) adalah satu teknik molekul unik yang menguatkan urutan *DNA* atau *RNA* tertentu dengan kekhususan, kecekapan, dan kelajuan yang tinggi di bawah keadaan isoterma. Ujian LAMP pertama kali dibangunkan pada tahun 2000 oleh Notomi *et al.* dan telah digunakan secara meluas dalam pelbagai aplikasi, termasuk diagnosis klinikal, pengesanan patogen, dan pemantauan alam sekitar (Wong *et al.*, 2018).

Ujian LAMP menggunakan *DNA polymerase enzyme* dan satu set empat (atau enam) *primer* yang direka khusus untuk mengenal pasti enam atau lebih kawasan yang berbeza dalam *DNA* atau *RNA* yang menjadi sasaran (Rajendrakumar *et al.*, 2019). Kandungan penurasan ujian LAMP serupa dengan penurasan PCR konvensional, yang mengandungi *buffer*, *DNA polymerase enzyme*, *dNTPs mix*, dan *primers*. Gen yang menjadi sasaran kemudiannya diperkuat dalam penurasan dalam satu langkah, pada keadaan isoterma pada suhu 60–65°C, dan produk yang diperkuat boleh dikesan melalui pelbagai kaedah pengesanan, termasuk *turbidity*, *fluorescence*, atau visualisasi melalui perubahan warna (Singh *et al.*, 2019).



Rajah 2.3. Lokasi dan kawasan sasaran *primer* LAMP.

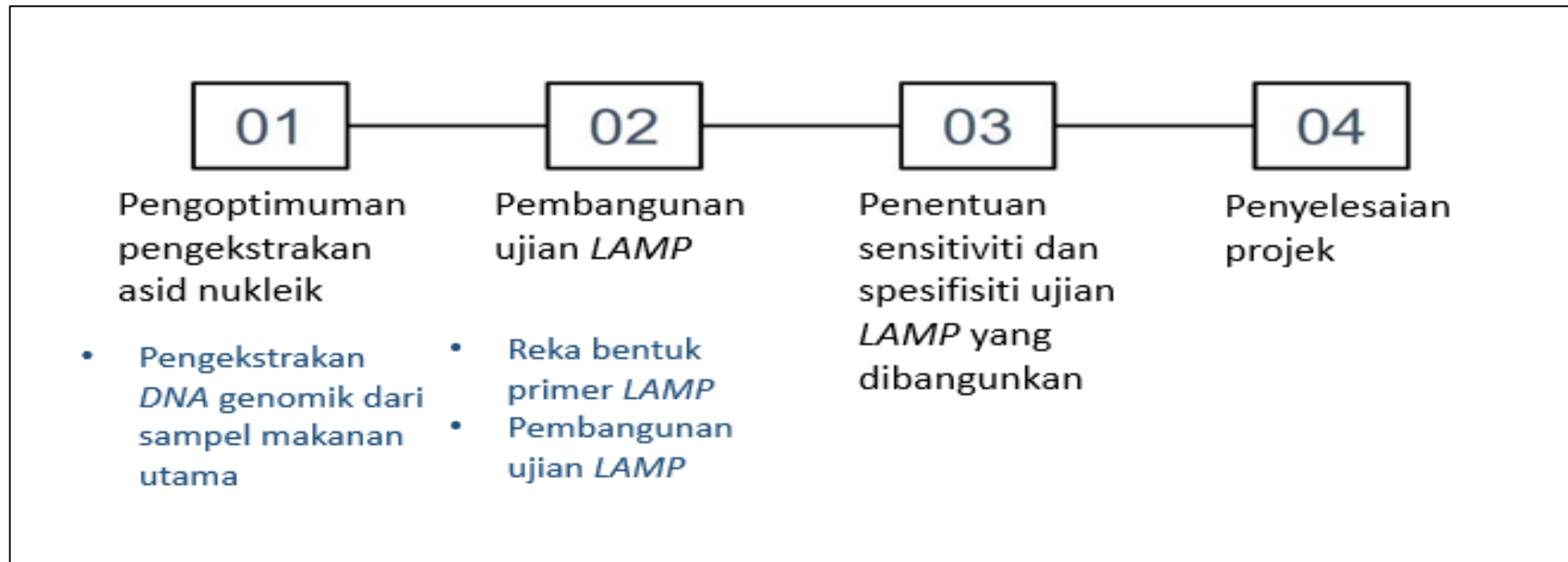
Sumber: <http://loopamp.eiken.co.jp/e/LAMP/primer.html>.

Prosedur yang relatif mudah dalam ujian *LAMP* telah memberikan beberapa kelebihan untuk *point-of-care (POC)* or ujian lapangan, termasuk waktu amplifikasi yang cepat dan singkat, spesifisitas dan kepekaan yang tinggi, serta kemampuan untuk dilakukan dalam keadaan isoterma tanpa memerlukan peralatan yang mahal dan canggih. Oleh itu, ujian *LAMP* telah menjadi alat yang berharga dalam pelbagai disiplin ilmu, termasuk diagnostik klinik, pemantauan alam sekitar, dan ujian keselamatan makanan (Wong *et al.*, 2018). Khususnya, ujian *LAMP* telah mendapat populariti dalam pengesanan cepat/di tempat koleksi (Chen *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2019; Takabatake *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2013).

BAB 3

METODOLOGI

3.1 Keseluruhan Projek



Rajah 3.1. Gambaran keseluruhan fasa kajian (Fasa 1 - 4). Projek ini dilaksanakan secara berperingkat seperti yang digambarkan dalam rajah di atas.

Selain itu, elaborasi bagi setiap fasa adalah seperti yang diberikan di bawah:

Fasa 1: Optimumkan pengekstrakan asid nukleik

Protokol pengekstrakan *DNA* genomik dari sampel makanan utama telah dibangunkan. Ini melibatkan kajian semula yang besar terhadap kaedah-kaedah sedia ada, termasuk bagaimana mereka berkaitan dengan kerja yang dicadangkan, khususnya untuk menjalankan pengekstrakan *DNA* tanpa prosedur yang rumit. Data ini telah dibincangkan di kalangan penyelidik melalui siri-siri sesi perbincangan dengan kepakaran yang berkaitan.

Fasa 2: Pembangunan ujian *LAMP*

Dalam fasa ini, ujian *LAMP* telah dibangunkan dengan merancang *primer* yang sesuai dalam siri-siri eksperimen. Data yang dihasilkan telah dikumpulkan dan dinilai oleh pasukan pakar.

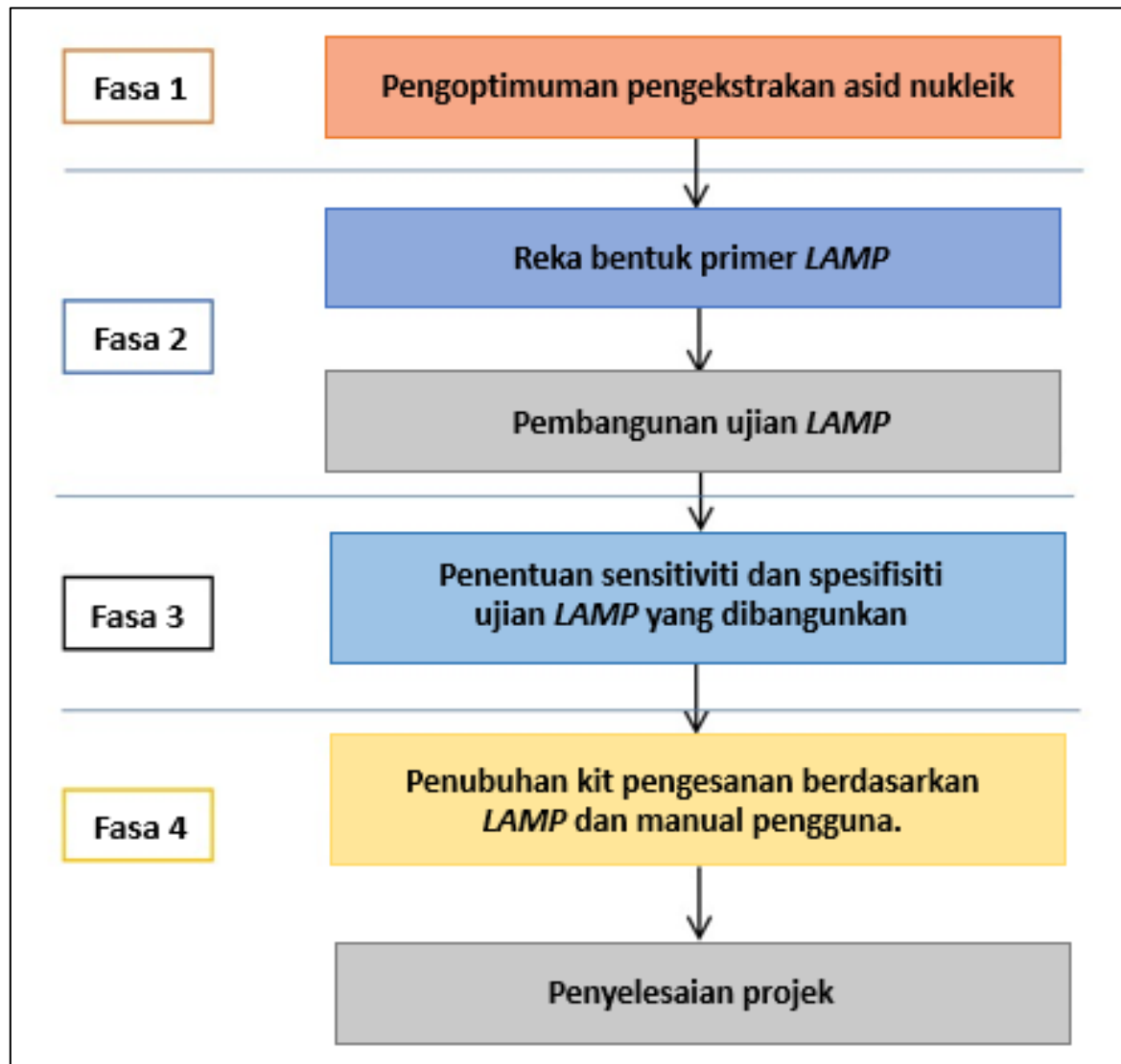
Fasa 3: Penentuan sensitiviti dan spesifisiti ujian *LAMP* yang dibangunkan

Pada fasa 3, sensitiviti dan spesifisiti kit yang dibangunkan telah disahkan.

Fasa 4: Penyelesaian projek

Pada peringkat ini, pembentangan dan penyerahan dokumen akhir laporan kajian telah selesai.

3.2 Rancangan Projek



Rajah 3.2. Luaran projek.

3.3 Perincian Penerangan Tugas

3.3.1 Tugas 1: Perancangan

Penyerahan laporan ini menandakan penyelesaian fasa awal projek. Aktiviti yang telah berlaku dalam fasa awal projek termasuk:

- Sesi mesyuarat permulaan bersama pasukan penyelidikan.
- Survei literatur untuk pembangunan kaedah eksperimen dan ujian *LAMP*.
- Perbincangan kumpulan tumpuan yang melibatkan pasukan penyelidikan dan pakar lapangan untuk membincangkan pelbagai pendekatan yang mungkin ke projek dan kemungkinannya dengan lebih terperinci.
- Penyediaan laporan permulaan.

3.3.2 Tugas 2: Pengekstrakan DNA daripada Makanan Asas

- Pengoptimuman pengekstrakan *DNA* genomik daripada makanan asas telah dilakukan pada tiga kaedah pengekstrakan *DNA* yang dipilih (Kaedah A – C).
- Konsentrasi sampel *DNA* yang dimurnikan diukur oleh spektrometer ultraviolet-terlihat dan keaslian *DNA* dinilai berdasarkan nisbah penyerapan pada 260 dan 280 nm.

Kaedah Pengekstrakan DNA A

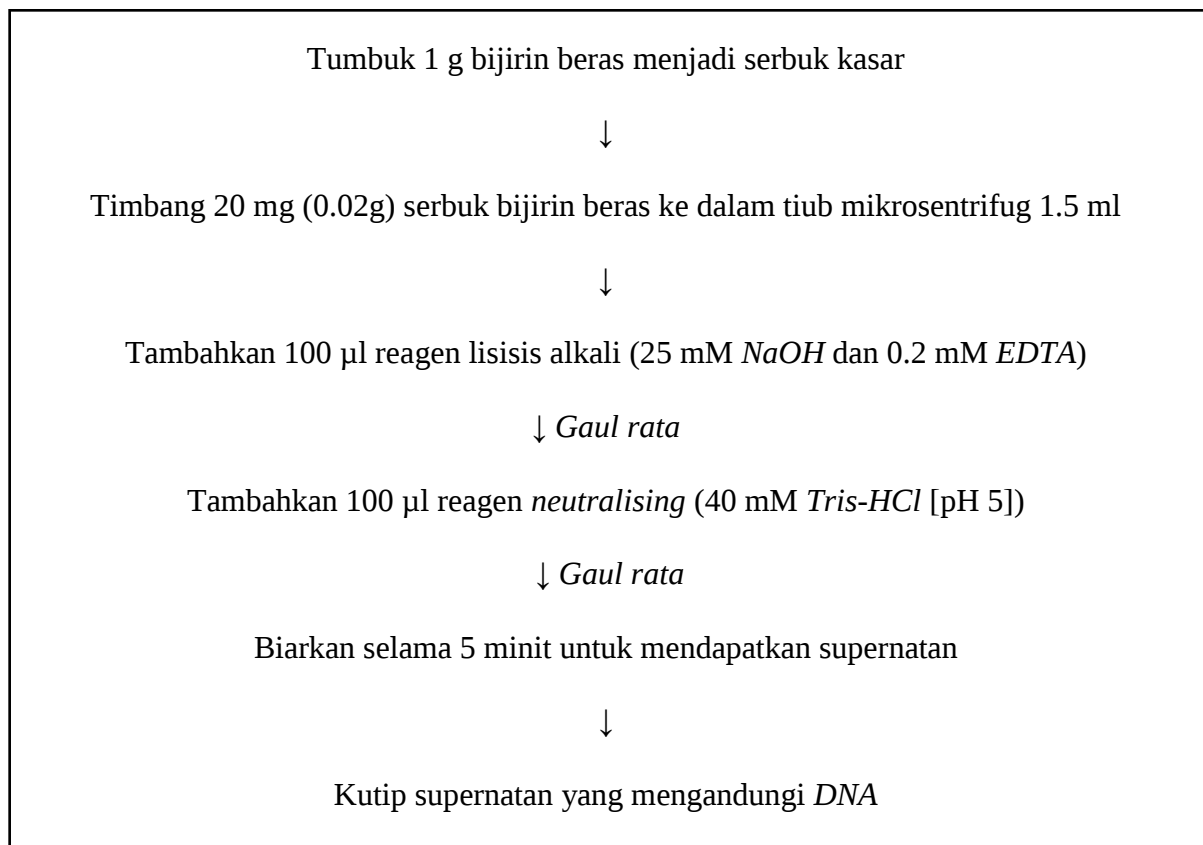
Kaedah ini telah diadaptasi dan diubahsuai daripada Narushima *et al.*, (2020).

Larutan:

Reagen lisisis alkali 25 mM Natrium hidroksida (*NaOH*) dan 0.2 mM *Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)*

Reagen *neutralising* (40 mM Tris Hidroklorida (*Tris-HCl*) [pH 5]))

Prosedur:



Rajah 3.3. Carta aliran kaedah pengekstrakan DNA A.

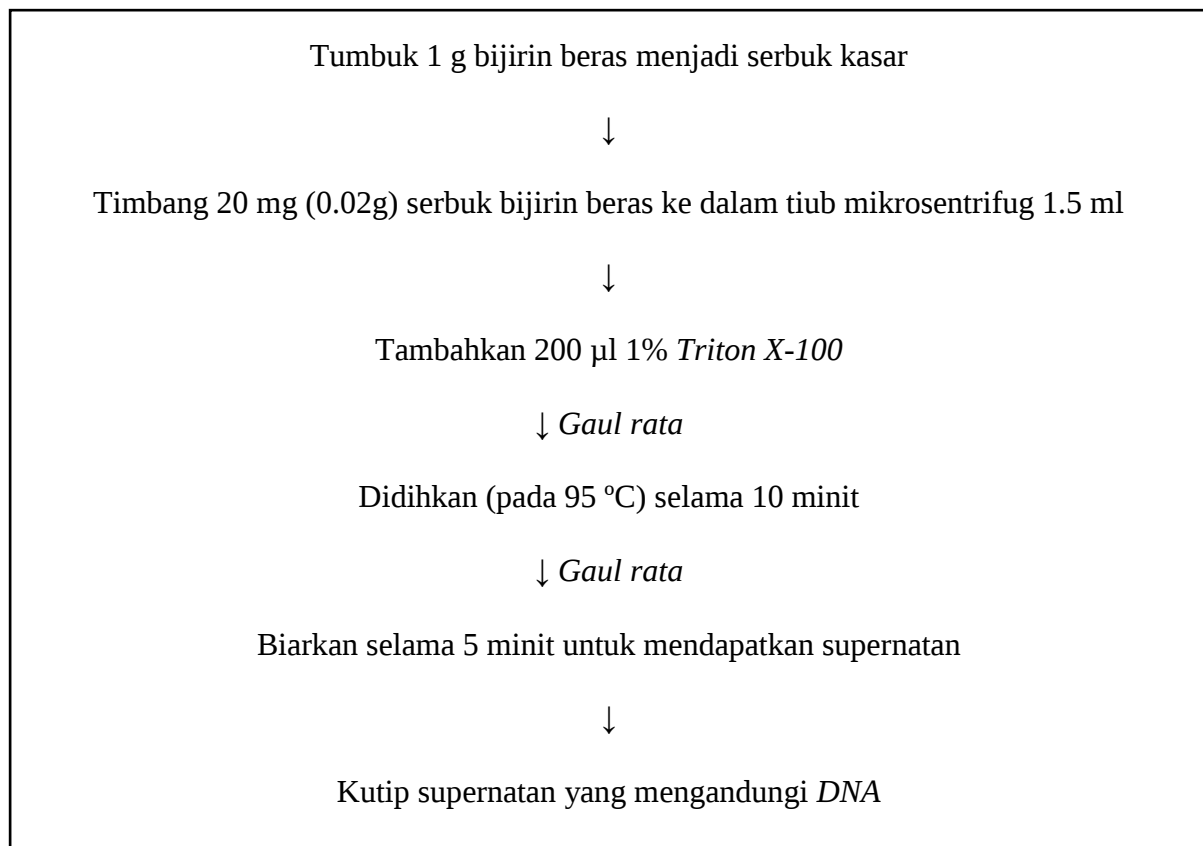
Kaedah Pengekstrakan DNA B

Kaedah ini telah diadaptasi dan diubahsuai daripada Sowmya *et al.*, (2012).

Larutan:

1% (v/v) *Triton X-100*

Prosedur:



Rajah 3.4. Carta aliran kaedah pengekstrakan DNA B.

Kaedah Pengekstrakan DNA C

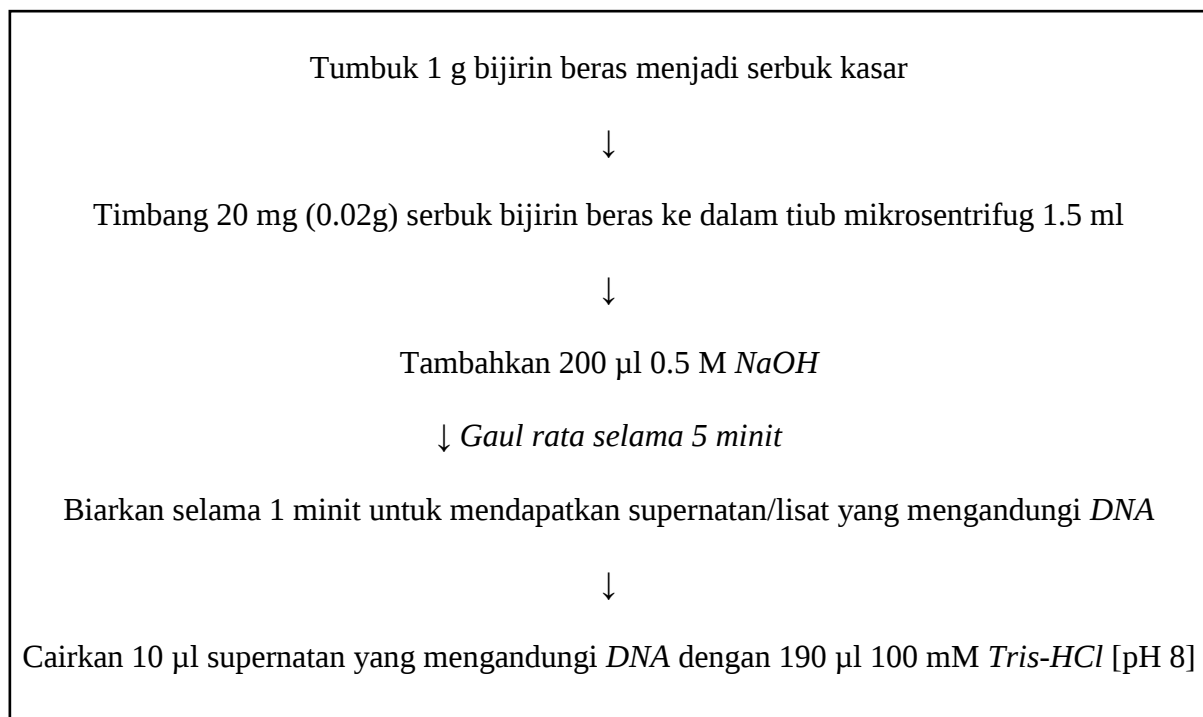
Kaedah ini telah diadaptasi dan diubahsuai daripada Aslani *et al.*, (2017).

Larutan:

100 mM *Tris-HCl* [pH 8]

0.5 M *NaOH*

Prosedur:



Rajah 3.5. Carta aliran kaedah pengekstrakan DNA C.

3.3.3 Tugas 3: Pembangunan Ujian *LAMP*

- **Reka bentuk *primer LAMP***

Analisis jujukan telah dijalankan menggunakan program BLAST dalam pangkalan data GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) untuk mengenal pasti jujukan yang khusus kepada variasi *LMO* yang diuji. Enam *primer* khusus telah direka menggunakan perisian dalam talian *Primer Explorer version 5* (<http://primerexplorer.jp/e>) untuk setiap tindak balas *LAMP* khusus, termasuk *forward inner primer*, *back inner primer*, *outer primers*, and *loop primers*. Semua *primer* telah disintesis dalam kepekatan 2 OD (Hardinge *et al.*, 2018).

- **Tindak balas *LAMP***

Tindak balas *LAMP* dijalankan dalam campuran tindak balas sebanyak 50 µl yang mengandungi 0.2 µmol/L bagi setiap *outer primer*, 0.8 µmol/L for setiap *inner primer*, 0.8 µmol/L setiap *loop primers*, 1.4 mmol/L *dNTPs mixture*, 8 mmol/L Magnesium sulfat (MgSO₄), 1X *isothermal amplification buffer*, 2 µl (8U) Bst 2.0 WarmStart DNA polymerase, dan jumlah yang ditentukan bagi DNA genom sasaran. *Malachite green* ditambahkan dalam campuran tindak balas kepada kepekatan 175 µmol/L. Tiub tertutup kemudiannya diinkubasi pada 65°C dalam blok pemanasan selama 60 minit. Selepas inkubasi, perubahan warna dapat dikenal pasti secara *visual*.

3.3.4 Tugas 4: Penentuan Sensitiviti dan Spesifisiti

- **Penentuan Sensitiviti *LAMP***

Sensitiviti ujian *LAMP* ditentukan dengan menggunakan templat *DNA* dari variasi tertentu yang telah direka untuk ujian *LAMP*. *DNA* itu telah dicairkan secara beransur-ansur sehingga *single copy gene* setiap mikroliter. Satu mikroliter daripada setiap pencairan digunakan sebagai templat untuk tindak balas *LAMP*. *Nuclease-free water* digunakan sebagai kawalan negatif sebagai gantinya. Semua ujian diulangi dalam dwikaji.

- **Penentuan Spesifisiti *LAMP***

Spesifisiti *LAMP* yang dibangunkan dinilai menggunakan variasi *LMO* yang berbeza (disediakan oleh pihak berkuasa yang berkaitan) dan makanan asas lain seperti kacang soya, kacang hijau, kacang merah, kacang kuda, kacang hitam, dan lain-lain. *DNA* dari tanaman-tanaman ini diekstrak seperti yang dijelaskan dalam bahagian Ekstraksi *DNA* Genom. Semua ujian diulangi dalam dwikaji. *Simulated on-site use* juga dilakukan. Kepekaan dan kebolehsuaian dibandingkan dengan protokol yang telah ditetapkan (berdasarkan *PCR*).

3.3.5 Tugas 5: Penyampaian Laporan Akhir

Laporan akhir projek diberikan dalam tempoh 12 bulan selepas tanda tangan kontrak. Laporan tersebut ditulis dalam Bahasa Malaysia, dan menyajikan jawapan yang terstruktur dengan baik kepada soalan berkaitan kaedah eksperimen dan pembangunan kit. Kit pengesanan pantas *LMO* dalam makanan asas menggunakan ujian *LAMP* telah dibangunkan dan panduan pengguna telah dijelaskan dengan jelas. Ketidakpastian dan andaian telah dinyatakan dengan jelas. Struktur laporan akhir termasuk:

- Tajuk
- Jadual kandungan
- Ringkasan eksekutif
- Pengenalan
- Metodologi penyelidikan
- Hasil penilaian
- Lampiran

Barang hantaran akhir telah diserahkan dalam tempoh 12 bulan selepas tanda tangan kontrak.

BAB 4

DATA DAN HASIL EKSPERIMENTAL

4.1 Perbincangan tentang Kerja

Sebanyak enam mesyuarat telah diadakan dengan pihak berkuasa dan pakar lapangan yang berkaitan untuk membincangkan butiran eksperimen bagi kerja ini. Minit mesyuarat bagi mesyuarat yang disenaraikan di bawah telah direkodkan dan dilampirkan dalam Jadual S1– S6, masing-masing.

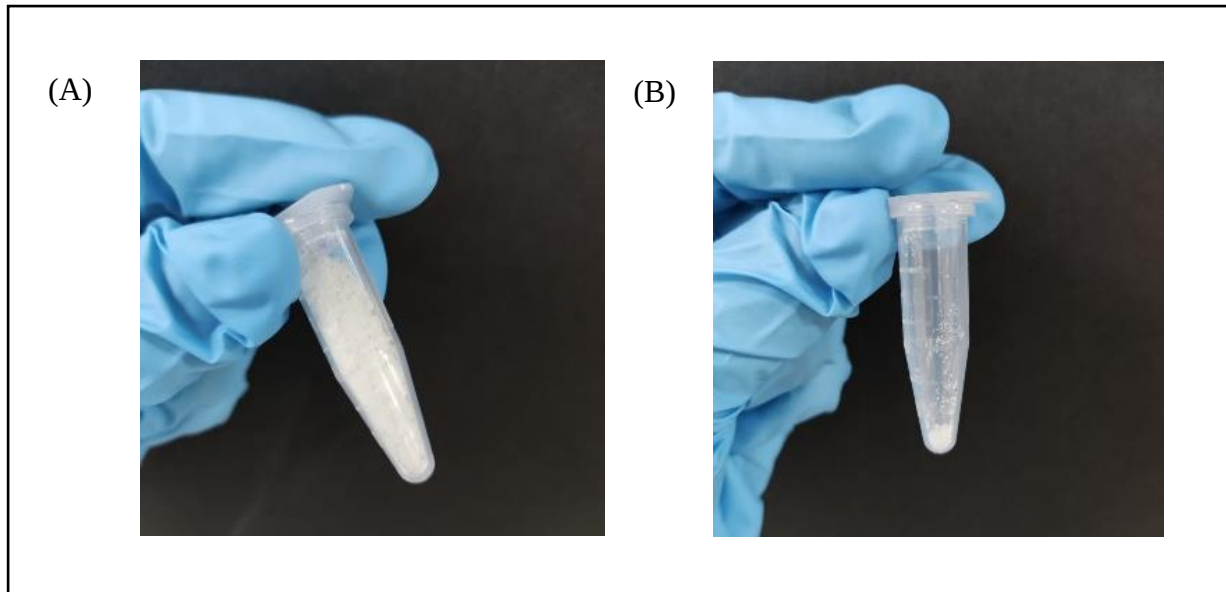
- a) Mesyuarat Projek pada 7 November 2022
- b) Mesyuarat dengan Jabatan Kimia Malaysia pada 20 Disember 2022
- c) Mesyuarat dengan Jabatan Biokeselamatan Malaysia pada 3 Januari 2023
- d) Mesyuarat Projek pada 13 Januari 2023
- e) Mesyuarat Projek pada 23 Februari 2023
- f) Mesyuarat Projek pada 22 Mac 2023

Komen dan cadangan dari setiap mesyuarat telah diambil kira dalam reka bentuk eksperimen dan rancangan untuk memajukan kajian ini.

4.2 Data Eksperimen dan Hasil – Fasa 1: Pengoptimuman Pengekstrakan DNA.



Rajah 4.1. Alat pengisar yang digunakan untuk penyediaan sampel



Rajah 4.2. Penyediaan sampel makanan asas. (A) Beras yang telah digiling menjadi serbuk (serbuk beras) dengan alat pengisar. (B) Kira-kira 20 μg serbuk beras dalam tiub mikrocentrifuge 1.5 ml.

Sejumlah tiga kaedah pengekstrakan *DNA* yang pantas dan mudah telah dipilih dan metodologi ringkas kaedah tersebut telah dilampirkan dalam Bab 3.3.2. Kaedah yang dipilih disenaraikan seperti berikut:

1. Kaedah A: 25 mM *NaOH* & 0.2 mM *EDTA* (Narushima *et al.*, 2020)
2. Kaedah B: 1% *Triton X-100* (Sowmya *et al.*, 2012)
3. Kaedah C: 500 mM *NaOH* (Aslani *et al.*, 2017)

Jadual 4.1. Anggaran kepekatan dan nisbah penyerapan 260/280 bagi sampel berdasarkan beberapa kaedah pengekstrakan DNA.

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	Kaedah A		Kaedah B		Kaedah C	
			(25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA)		(1% Triton X-100)		(500 mM NaOH)	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
Beras (Oryza sativa)								
1.	152	Beras – Vietnamese Japonica White Rice	95.0	1.96	400.0	0.74	434.0	1.69
2.	153	Beras – Thai Hom Mali Rice	86.0	1.81	2320.0	0.82	312.0	1.73
3.	154	Beras – Thai White Rice	62.0	1.84	1130.0	0.83	98.0	1.94
4.	155	Beras – Vietnam Brown Jasmine Rice	137.0	1.81	660.0	0.73	424.0	1.73
5.	156	Beras – Long Grain Sela Rice	88.0	1.93	1070.0	0.77	128.0	1.83
6.	157	Beras – Pakistan Long Grain White Rice	126.0	1.76	730.0	0.63	276.0	1.78
7.	158	Beras – Pakistan Long Grain White Rice	146.0	1.66	890.0	0.79	788.0	1.56
8.	159	Beras – Thai Red Rice	221.0	1.30	830.0	0.80	1036.0	1.30
9.	160	Beras – Thai White Rice	94.0	1.75	640.0	0.90	166.0	1.84
10.	161	Beras – Pakistani Long Grain White Rice	110.0	1.90	414.0	0.93	198.0	1.78
Gandum (Triticum aestivum)								
11.	128	Gandum – Red Spring Wheat	218.0	1.44	1230.0	0.73	400.0	1.32
Jagung (Zea mays)								
12.	164	Jagung – Indian Yellow Corn	308.0	1.15	1140.0	0.72	438.0	1.06

Jadual 4.1. Sambungan...

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	Kaedah A (25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA)		Kaedah B (1% Triton X-100)		Kaedah C (500 mM NaOH)	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
13.	169	Jagung – Pakistan Yellow Maize	142.0	1.71	1740.0	0.79	172.0	1.29
14.	180	Jagung – Yellow Maize	101.0	1.80	1320.0	0.79	190.0	1.12
15.	181	Jagung – Yellow Maize	121.0	1.72	1140.0	0.74	230.0	1.33
16.	183	Jagung – Yellow Maize	138.0	1.80	940.0	0.75	288.0	1.30
17.	184	Jagung – Yellow Maize	93.0	1.79	1010.0	0.74	214.0	1.28
18.	185	Jagung – Yellow Corn Maize	117.0	1.76	2150.0	1.04	208.0	1.50
19.	186	Jagung – Maize	131.0	1.40	970.0	0.79	242.0	1.26
Kacang Soya (Glycine max)								
20.	166	Kacang Soya – Yellow Soybean	915.0	1.40	1010.0	0.99	1508.0	1.47
21.	170	Kacang Soya – Yellow Soybean	805.0	1.42	1320.0	1.09	1476.0	1.45
22.	179	Kacang Soya – Soybean	1018.0	1.56	1350.0	1.17	1834.0	1.63

Nisbah penyerapan 260/280 adalah penunjuk yang baik bagi kehadiran pencemaran protein dalam sampel DNA. Apabila ia adalah ≥ 1.8 , ia menunjukkan sampel DNA yang tulen. Butiran lanjut mengenai sampel makanan yang diuji telah dilampirkan dalam Rajah S1 dan S2 (Apendiks 4) berdasarkan nombor rujukan masing-masing.

Jadual 4.2. Anggaran kepekatan dan nisbah penyerapan 260/280 sampel pada 24, 48, dan 72 jam selepas eksperimen.

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	24 jam selepas eksperimen,		48 jam selepas eksperimen,		72 jam selepas eksperimen,	
			suhu bilik 25 °C		suhu bilik 25 °C		suhu bilik 25 °C	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
Kaedah A - 25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA								
1.	152	Beras – Vietnamese Japonica White Rice	110.0	2.07	113.0	1.69	114.0	1.82
2.	153	Beras – Thai Hom Mali Rice	124.0	1.98	136.0	1.71	141.0	1.87
3.	154	Beras – Thai White Rice	191.0	1.32	200.0	1.22	196.0	1.23
4.	155	Beras – Vietnam Brown Jasmine Rice	1000.0	1.43	1014.0	1.36	776.0	1.21
5.	156	Beras – Long Grain Sela Rice	861.0	1.46	885.0	1.39	663.0	1.20
6.	157	Beras – Pakistan Long Grain White Rice	1047.0	1.58	923.0	1.40	786.0	1.29
7.	158	Beras – Pakistan Long Grain White Rice	314.0	1.35	333.0	1.34	317.0	1.35
8.	159	Beras – Thai Red Rice	110.0	1.95	105.0	1.68	91.0	1.58
9.	160	Beras – Thai White Rice	131.0	1.82	123.0	1.61	110.0	1.46
10.	161	Beras – Pakistani Long Grain White Rice	230.0	1.54	214.0	1.39	190.0	1.49
11.	128	Gandum – Red Spring Wheat	230.0	1.54	214.0	1.39	190.0	1.49
12.	164	Jagung – Indian Yellow Corn	1000.0	1.43	1014.0	1.36	776.0	1.21
13.	169	Jagung – Pakistan Yellow Maize	861.0	1.46	885.0	1.39	663.0	1.20
14.	180	Jagung – Yellow Maize	1047.0	1.58	923.0	1.40	786.0	1.29

Jadual 4.2. Sambungan...

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	24 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		48 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		72 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
15.	181	Jagung – Yellow Maize	314.0	1.35	333.0	1.34	317.0	1.35
16.	183	Jagung – Yellow Maize	110.0	1.95	105.0	1.68	91.0	1.58
17.	184	Jagung – Yellow Maize	131.0	1.82	123.0	1.61	110.0	1.46
18.	185	Jagung – Yellow Corn Maize	230.0	1.54	214.0	1.39	190.0	1.49
19.	186	Jagung – Maize	110.0	2.07	113.0	1.69	114.0	1.82
20.	166	Kacang Soya – Yellow Soybean	110.0	2.07	113.0	1.69	114.0	1.82
21.	170	Kacang Soya – Yellow Soybean	124.0	1.98	136.0	1.71	141.0	1.87
22.	179	Kacang Soya – Soybean	191.0	1.32	200.0	1.22	196.0	1.23
Kaedah B - 1% Triton X-100								
1.	152	Beras – Vietnamese Japonica White Rice	390.0	0.43	500.0	0.63	540.0	0.59
2.	153	Beras – Thai Hom Mali Rice	670.0	0.67	930.0	0.84	830.0	0.81
3.	154	Beras – Thai White Rice	430.0	0.63	1390.0	1.15	570.0	0.74
4.	155	Beras – Vietnam Brown Jasmine Rice	720.0	0.80	980.0	0.94	980.0	0.99
5.	156	Beras – Long Grain Sela Rice	1280.0	1.21	1220.0	1.35	1240.0	1.18
6.	157	Beras – Pakistan Long Grain White Rice	770.0	0.99	770.0	1.10	830.0	0.99

Jadual 4.2. Sambungan...

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	24 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		48 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		72 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
7.	158	<i>Beras – Pakistan Long Grain White Rice</i>	1040.0	0.63	1250.0	0.70	1230.0	0.71
8.	159	<i>Beras – Thai Red Rice</i>	2290.0	1.09	2180.0	1.07	1970.0	1.02
9.	160	<i>Beras – Thai White Rice</i>	590.0	0.60	930.0	0.74	740.0	0.67
10.	161	<i>Beras – Pakistani Long Grain White Rice</i>	1070.0	0.70	1310.0	0.74	1530.0	0.88
11.	128	<i>Gandum – Red Spring Wheat</i>	1070.0	0.70	1310.0	0.74	1530.0	0.88
12.	164	<i>Jagung – Indian Yellow Corn</i>	720.0	0.80	980.0	0.94	980.0	0.99
13.	169	<i>Jagung – Pakistan Yellow Maize</i>	1280.0	1.21	1220.0	1.35	1240.0	1.18
14.	180	<i>Jagung – Yellow Maize</i>	770.0	0.99	770.0	1.10	830.0	0.99
15.	181	<i>Jagung – Yellow Maize</i>	1040.0	0.63	1250.0	0.70	1230.0	0.71
16.	183	<i>Jagung – Yellow Maize</i>	2290.0	1.09	2180.0	1.07	1970.0	1.02
17.	184	<i>Jagung – Yellow Maize</i>	590.0	0.60	930.0	0.74	740.0	0.67
18.	185	<i>Jagung – Yellow Corn Maize</i>	1070.0	0.70	1310.0	0.74	1530.0	0.88
19.	186	<i>Jagung – Maize</i>	390.0	0.43	500.0	0.63	540.0	0.59
20.	166	<i>Kacang Soya – Yellow Soybean</i>	390.0	0.43	500.0	0.63	540.0	0.59
21.	170	<i>Kacang Soya – Yellow Soybean</i>	670.0	0.67	930.0	0.84	830.0	0.81

Jadual 4.2. Sambungan...

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	24 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		48 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		72 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
22.	179	<i>Kacang Soya – Soybean</i>	430.0	0.63	1390.0	1.15	570.0	0.74
<i>Kaedah C - 500 mM NaOH</i>								
1.	152	<i>Beras – Vietnamese Japonica White Rice</i>	306.0	1.77	356.0	1.77	330.0	1.76
2.	153	<i>Beras – Thai Hom Mali Rice</i>	744.0	1.56	888.0	1.53	822.0	1.55
3.	154	<i>Beras – Thai White Rice</i>	862.0	1.36	872.0	1.37	860.0	1.41
4.	155	<i>Beras – Vietnam Brown Jasmine Rice</i>	1566.0	1.47	1540.0	1.49	1542.0	1.49
5.	156	<i>Beras – Long Grain Sela Rice</i>	1488.0	1.47	1456.0	1.48	1442.0	1.47
6.	157	<i>Beras – Pakistan Long Grain White Rice</i>	1900.0	1.64	1896.0	1.64	1892.0	1.65
7.	158	<i>Beras – Pakistan Long Grain White Rice</i>	474.0	1.21	486.0	1.19	556.0	1.28
8.	159	<i>Beras – Thai Red Rice</i>	242.0	1.7	224.0	1.50	216.0	1.69
9.	160	<i>Beras – Thai White Rice</i>	248.0	1.44	272.0	1.37	286.0	1.44
10.	161	<i>Beras – Pakistani Long Grain White Rice</i>	452.0	1.41	436.0	1.36	418.0	1.41
11.	128	<i>Gandum – Red Spring Wheat</i>	452.0	1.41	436.0	1.36	418.0	1.41
12.	164	<i>Jagung – Indian Yellow Corn</i>	1566.0	1.47	1540.0	1.49	1542.0	1.49
13.	169	<i>Jagung – Pakistan Yellow Maize</i>	1488.0	1.47	1456.0	1.48	1442.0	1.47

Jadual 4.2. Sambungan...

No.	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	24 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		48 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C		72 jam selepas eksperimen, suhu bilik 25 °C	
			Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsentrasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
14.	180	Jagung – Yellow Maize	1900.0	1.64	1896.0	1.64	1892.0	1.65
15.	181	Jagung – Yellow Maize	474.0	1.21	486.0	1.19	556.0	1.28
16.	183	Jagung – Yellow Maize	242.0	1.7	224.0	1.50	216.0	1.69
17.	184	Jagung – Yellow Maize	248.0	1.44	272.0	1.37	286.0	1.44
18.	185	Jagung – Yellow Corn Maize	452.0	1.41	436.0	1.36	418.0	1.41
19.	186	Jagung – Maize	306.0	1.77	356.0	1.77	330.0	1.76
20.	166	Kacang Soya – Yellow Soybean	306.0	1.77	356.0	1.77	330.0	1.76
21.	170	Kacang Soya – Yellow Soybean	744.0	1.56	888.0	1.53	822.0	1.55
22.	179	Kacang Soya – Soybean	862.0	1.36	872.0	1.37	860.0	1.41

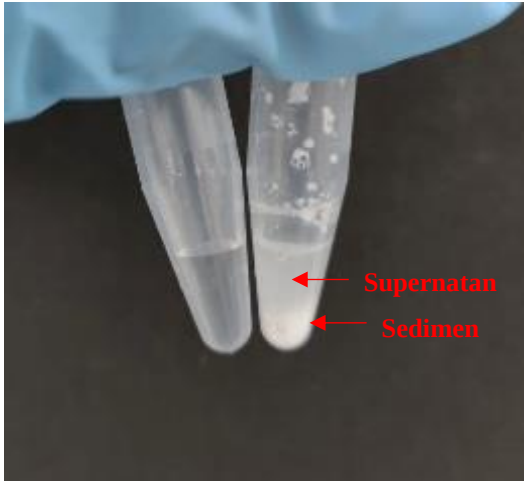
Nisbah penyerapan 260/280 adalah penunjuk yang baik bagi kehadiran pencemaran protein dalam sampel DNA. Apabila ia adalah ≥ 1.8 , ia menunjukkan sampel DNA yang tulen. Butiran lanjut mengenai sampel makanan yang diuji telah dilampirkan dalam Rajah S1 dan S2 (Apendiks 4) berdasarkan nombor rujukan masing-masing.

Jadual 4.3. Penilaian kestabilan sampel DNA yang diekstrak berdasarkan suhu penyimpanan yang berbeza.

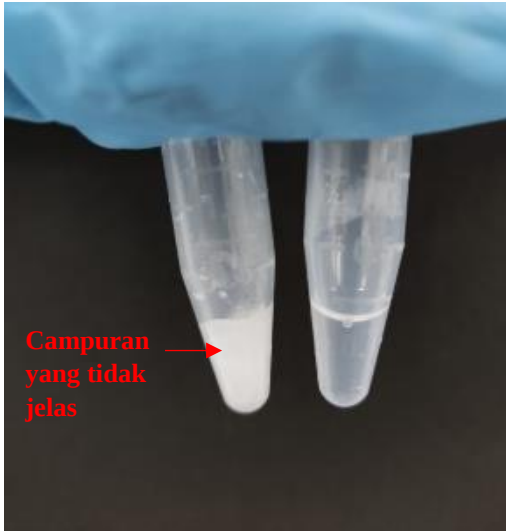
No	Nombor Rujukan	Jenis Sampel	Jam	Kaedah A 25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA				Kaedah B 1% Triton X-100				Kaedah C 500 mM NaOH			
				Temperatur Penyimpanan				Temperatur Penyimpanan				Temperatur Penyimpanan			
				4°C		37°C		4°C		37°C		4°C		37°C	
				Konsent rasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsent rasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsent rasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsent rasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsent rasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280	Konsent rasi (ng/ µl)	Nisbah Penyerapan 260/280
1.	161	<i>Beras –Pakistani Long Grain White Rice</i>	0	72.0	2.22	74.0	2.26	620.0	0.63	950.0	0.60	122.0	2.06	134.0	1.74
			24	86.0	1.92	86.0	2.23	1190.0	0.84	910.0	0.58	136.0	1.89	142.0	1.86
			48	66.0	2.48	87.0	1.90	960.0	0.85	850.0	0.59	128.0	1.76	106.0	1.82
			72	61.0	3.06	79.0	2.88	810.0	0.74	530.0	0.41	78.0	1.50	62.0	1.75
2.	128	<i>Gandum – Red Spring Wheat</i>	0	310.0	1.44	298.0	1.37	1260.0	0.71	1130.0	0.67	226.0	1.39	580.0	1.35
			24	329.0	1.49	340.0	1.44	1320.0	0.71	1350.0	0.68	220.0	1.51	702.0	1.49
			48	301.0	1.39	343.0	1.40	1120.0	0.68	1380.0	0.76	188.0	1.42	604.0	1.53
			72	270.0	1.42	385.0	1.55	1330.0	0.72	1710.0	0.83	172.0	1.41	342.0	1.36
3.	185	<i>Jagung – Yellow Corn Maize</i>	0	294.0	1.72	163.0	1.77	680.0	0.65	550.0	0.70	262.0	1.60	182.0	1.51
			24	347.0	1.59	171.0	1.60	690.0	0.63	660.0	0.69	296.0	1.56	216.0	1.70
			48	264.0	1.49	176.0	1.57	700.0	0.72	710.0	0.82	328.0	1.64	194.0	1.66
			72	229.0	1.48	186.0	1.55	640.0	0.66	680.0	0.77	328.0	1.72	214.0	1.81
4.	179	<i>Kacang Soya – Soybean</i>	0	1231.0	1.56	951.0	1.55	670.0	0.96	710.0	1.26	1140.0	1.62	1112.0	1.76
			24	1337.0	1.54	967.0	1.49	740.0	0.94	660.0	1.13	1122.0	1.65	1156.0	1.81
			48	1020.0	1.31	813.0	1.16	680.0	0.94	860.0	1.33	1134.0	1.67	1134.0	1.82
			72	972.0	1.21	624.0	1.18	670.0	0.92	800.0	1.36	1102.0	1.64	1208.0	1.78

Nisbah penyerapan 260/280 adalah penunjuk yang baik bagi kehadiran pencemaran protein dalam sampel DNA. Apabila ia adalah ≥ 1.8 , ia menunjukkan sampel DNA yang tulen. Butiran lanjut mengenai sampel makanan yang diuji telah dilampirkan dalam Rajah S1 dan S2 (Apendiks 4) berdasarkan nombor rujukan masing-masing.

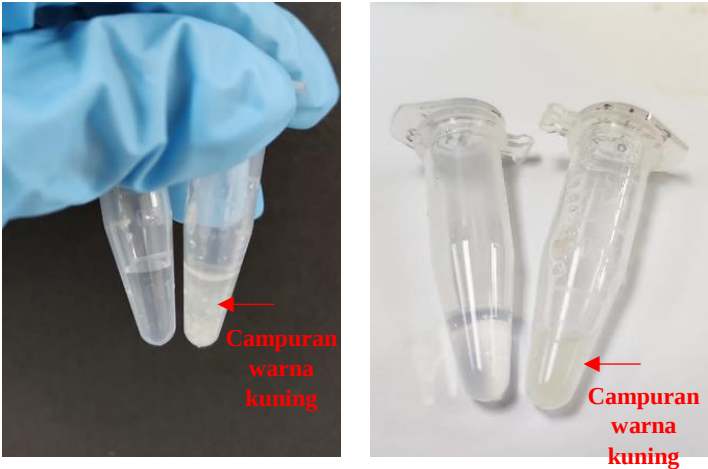
Jadual 4.4. Penilaian bagi kaedah pengekstrakan DNA.

Jenis Kaedah	Gambar	Penilaian
Kaedah A (25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA)	 Kiri – kawalan negatif (kosong); Kanan – dengan sampel beras	Campuran serbuk beras menjadi berwarna putih dan keruh selepas penambahan bahan kimia. Campuran tersebut telah dipisahkan kepada 2 lapisan (supernatan dengan sedimen serbuk beras; tiub kanan) selepas 1 minit, supernatan dikutip untuk pengukuran.

Jadual 4.4. Sambungan...

Jenis Kaedah	Gambar	Pemerhatian
Kaedah B (1% Triton X-100)	 Kiri – dengan sampel beras; Kana – kawalan negatif (kosong).	Selepas 10 minit pemanasan pada suhu 95°C, larutan 200 µl 1% Triton X-100 dengan sampel beras (tiub kiri) menjadi keruh, pekat, dan tidak jelas (berwarna putih). Campuran yang dihasilkan adalah pekat dan mempunyai tekstur seperti gel, yang membuatkan pengekstrakan sampel sukar. Sampel kawalan (tiub kanan) juga menjadi keruh dan tidak jelas (berwarna putih) selepas dipanaskan tetapi kembali menjadi larutan yang jernih dan clear setelah sejuk pada suhu bilik.

Jadual 4.4. Sambungan...

Jenis Kaedah	Gambar	Pemerhatian
Kaedah C (500 mM NaOH)		Sampel beras telah berubah sedikit menjadi warna kuning selepas penambahan 200 µl larutan 500 mM NaOH (tiub sebelah kanan). Kemudian, campuran tersebut menjadi sangat melekit dan licin, dengan tekstur seperti gel, yang sukar untuk dihisap.

Kiri – kawalan negatif (kosong);
Kanan – dengan sampel beras

Note:

- Sampel beras 161 digunakan sepanjang eksperimen ini untuk mengekalkan konsistensi hasil.

4.3 Prototaip Terakhir – Kit Pengekstrakan DNA (Kaedah A dan C)



Rajah 4.3. Penyusunan kit pengekstrakan DNA (Kaedah A dan C).

Prinsip

Kit pengekstrakan *DNA* (Kaedah A dan C) direka untuk mengasingkan templat *DNA* daripada pelbagai sampel makanan asas. Kit ini mengandungi Kaedah A dan C, yang direka khusus untuk pengekstrakan *DNA* daripada pelbagai jenis makanan asas. Kaedah A sangat disyorkan untuk pengekstrakan *DNA* dari beras, manakala Kaedah C lebih sesuai untuk makanan asas lain seperti gandum, jagung, dan kacang soya.

Prosedur

Pengekstrakan *DNA* sampel makanan menggunakan kit pengekstrakan *DNA* (Kaedah A dan C) mengikuti prosedur yang mudah dan cepat. Kaedah ini melibatkan langkah-langkah utama berikut:

1. **Penyediaan Sampel:** Sampel makanan digiling untuk memudahkan pemprosesan lanjut.
2. **Lisis:** Sampel makanan yang digiling mengalami lisis menggunakan reagen lisis alkali untuk memecahkan struktur sel sampel dan melepaskan *DNA*.
3. **Penyelarasan:** Selepas lisis, tindak balas ini diselaraskan dengan menggunakan agen penyelarasan. Langkah ini menstabilkan *DNA* dan menyediakannya untuk analisis seterusnya.

Penyimpanan

Kit pengekstrakan *DNA* (Kaedah A dan C) harus disimpan kering pada suhu bilik (15–25°C) selama sehingga 6 bulan tanpa menunjukkan pengurangan prestasi dan kualiti.

Maklumat Keselamatan

Apabila mengendalikan bahan kimia, adalah penting untuk memakai baju makmal yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kasut bertutup.

Kandungan Kit

Jadual 4.5. Kandungan kit pengekstrakan DNA (Kaedah A dan C).

Item	Unit
Manual – Kaedah A	1
Manual – Kaedah C	1
Alat penggilingan makanan – <i>Mini chopper</i>	1
Alat penggilingan makanan – <i>Manual grinder</i>	1
Spatula mikro	2
Rak tiub mikrocentrifuge	2
Kaedah A – Reagen A	100 ml
Kaedah A – Reagen B	100 ml
Kaedah C – Reagen A	100 ml
Kaedah C – Reagen B	100 ml
Tiub mikrocentrifuge 1.5 ml	300

* Ambil 1000 µl setiap reagen dan alihkannya ke dalam tiub mikrocentrifuge 1.5 ml yang bersih, yang dipisahkan untuk digunakan secara individu.

Peralatan, reagen, dan barang guna yang perlu dibekalkan oleh pengguna

- Mikropipet isipadu boleh ubah untuk 0.5–10 µl dan 100–1000 µl
- Ujung pipet 10 µl dan 1000 µl
- Ethanol 70% (v/v)
- Sarung tangan lateks

Penyusunan

Untuk mengelakkan sebarang pencemaran kit ujian LAMP, penyusunan proses pengekstrakan DNA menggunakan kit pengekstrakan DNA (Kaedah A dan C) perlu dijalankan di lokasi yang berbeza daripada kawasan ujian LAMP.

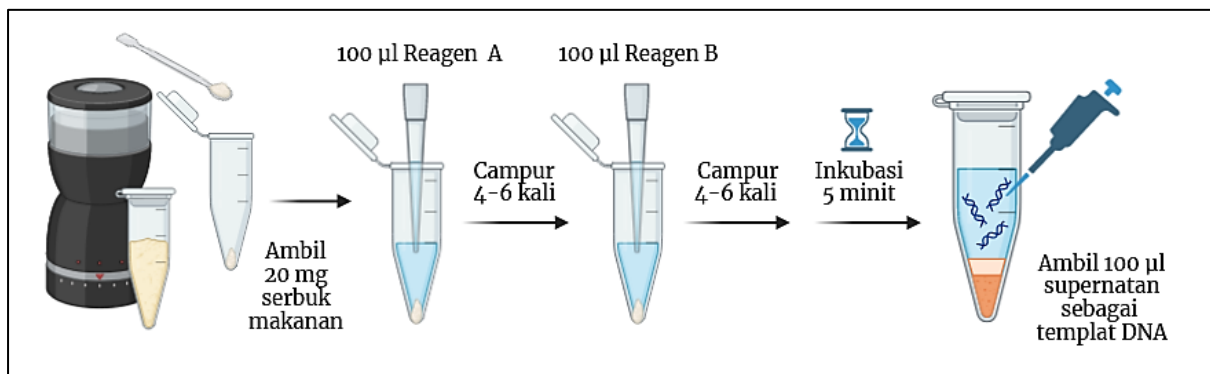
Nota penting

- Sterilkan permukaan meja kerja dengan ethanol 70% sebelum dan selepas proses pengekstrakan *DNA*.
- Mengekalkan satu set peralatan, reagen, dan bahan habis pakai yang khusus untuk pengekstrakan *DNA* untuk menghindari sebarang risiko potensi pencemaran ke kit ujian *LAMP*.
- *Aliquot* jumlah reagen yang diperlukan dari bekalan reagen untuk tujuan penggunaan tunggal dan buangkan selepas pengekstrakan *DNA*.

Protokol

Kaedah A

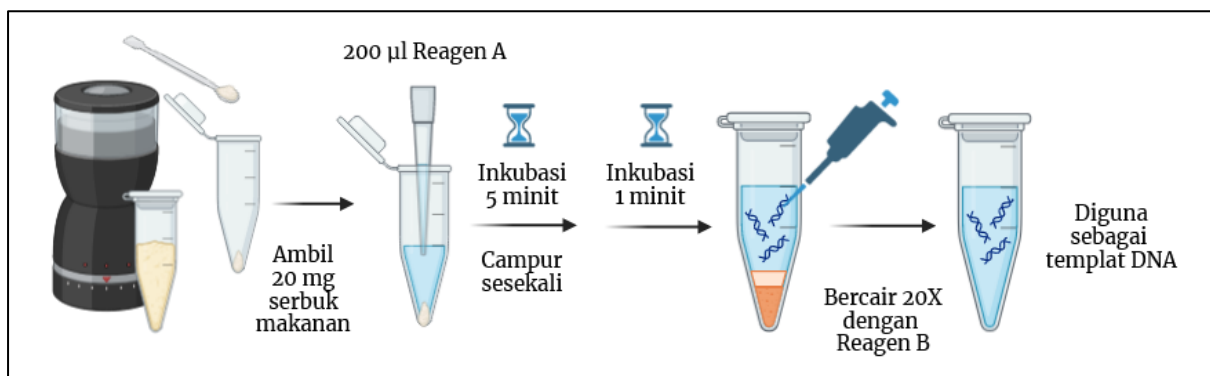
1. Tumbuk kira-kira 1 g sampel makanan sehingga menjadi serbuk kasar.
2. Timbang kira-kira 20 mg (0.02 g) serbuk makanan yang telah dikisar ke dalam tiub mikrosentrifus 1.5 ml.
3. Tambahkan 100 μ l Reagen A ke dalam tiub. Campurkan larutan dengan membalikkan tiub sebanyak 4–6 kali.
4. Tambahkan 100 μ l Reagen B ke dalam tiub. Campurkan larutan dengan membalikkan tiub sebanyak 4–6 kali.
5. Biarkan tiub berdiri selama 5 minit pada suhu bilik.
6. Kumpulkan 100 μ l supernatan yang mengandungi *DNA* dan pindahkan ke dalam tiub mikrosentrifus bersih 1.5 ml yang berasingan.



Rajah 4.4. Diagram alir ekstraksi *DNA* Kaedah A.

Kaedah C

1. Tumbuk kira-kira 1 g sampel makanan sehingga menjadi serbuk kasar.
2. Timbang kira-kira 20 mg (0.02 g) serbuk makanan yang telah dikisar ke dalam tiub mikrosentrifus 1.5 ml.
3. Tambahkan 200 μ l Reagen A ke dalam tiub.
4. Inkubasikan campuran pada suhu bilik selama 5 minit, dengan sesekali mengendalikannya tiub dengan lembut.
5. Selepas inkubasi 5 minit, biarkan tiub berdiri selama 1 minit pada suhu bilik.
6. Tambahkan 190 μ l Reagen B ke dalam tiub bersih yang berasingan.
7. Kumpulkan 10 μ l supernatan dan pindahkan ke dalam tiub yang mengandungi 190 μ l Reagen B. Campurkan larutan dengan membalikkan tiub sebanyak 4–6 kali.



Rajah 4.5. Diagram alir ekstraksi DNA Kaedah C.



Kit Pengekstrakan DNA (Kaedah A)

untuk pengekstrakan DNA daripada pelbagai jenis makanan asas

Kandungan kit

Peralatan

- Alat penggilingan makanan
- Spatula mikro
- Rak tiub mikrocentrifuge

Reagen

- Reagen A (25 mM NaOH dan 0.2 mM EDTA)
- Reagen B (40 mM Tris-HCl [pH 5])

Barang guna habis

- Tiub mikrocentrifuge 1.5 ml

Penyimpanan

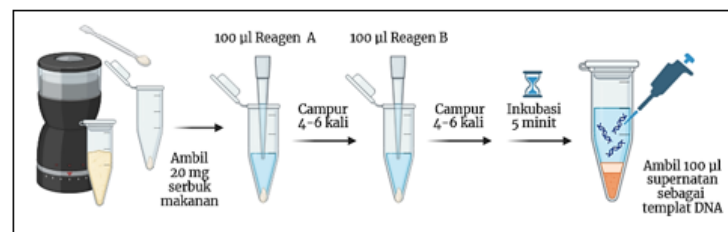
Kit ini harus disimpan kering pada suhu bilik (15–25°C) selama sehingga 6 bulan.

Peralatan, Reagen, dan Barang guna habis yang perlu dibekalkan oleh pengguna

- Mikropipet isipadu boleh ubah untuk 0.5–10 µl dan 100–1000 µl
- Ujung pipet 10 µl dan 1000 µl
- Etanol 70% (v/v)
- Sarung tangan lateks

Prosedur pra-eksperimen

- Sterilkan permukaan meja kerja dan semua alat dengan etanol 70%.
- Ambil 1000 µl setiap reagen dan alihkannya ke dalam tiub mikrocentrifuge 1.5 ml yang bersih, yang dipisahkan untuk digunakan secara individu.



Prosedur

1. Tumbuk kira-kira 1 g sampel makanan sehingga menjadi serbuk kasar.
2. Timbang kira-kira 20 mg (0.02 g) serbuk makanan yang telah dikisar ke dalam tiub mikrosentrifus 1.5 ml.
3. Tambahkan 100 µl **Reagen A** ke dalam tiub. Campurkan larutan dengan membalikkan tiub sebanyak 4–6 kali.
4. Tambahkan 100 µl **Reagen B** ke dalam tiub. Campurkan larutan dengan membalikkan tiub sebanyak 4–6 kali.
5. Inkubasikan tiub selama 5 minit pada suhu bilik.
6. Kumpulkan 100 µl supernatan yang mengandungi DNA dan pindahkan ke dalam tiub mikrosentrifus bersih 1.5 ml yang berasingan.

Rajah 4.6. Garis panduan kit pengekstrakan DNA (Kaedah A).



UNIVERSITI
MALAYA



B
BIOSSELAMATAN

Kit Pengekstrakan DNA (Kaedah C)

untuk pengekstrakan DNA daripada pelbagai jenis makanan asas

Kandungan kit

Peralatan

- Alat penggilingan makanan
- Spatula mikro
- Rak tiub mikrocentrifuge

Reagen

- Reagen A (500 mM NaOH)
- Reagen B (100 mM Tris-HCl [pH 8])

Barang guna habis

- Tiub mikrocentrifuge 1.5 ml

Penyimpanan

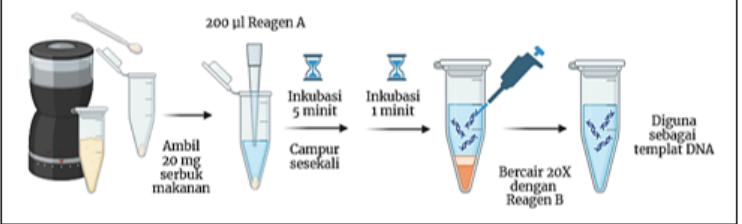
Kit ini harus disimpan kering pada suhu bilik (15–25°C) selama sehingga 6 bulan.

Peralatan, Reagen, dan Barang guna habis yang perlu dibekalkan oleh pengguna

- Mikropipet isipadu boleh ubah untuk 0.5–10 µl dan 100–1000 µl
- Ujung pipet 10 µl dan 1000 µl
- Etanol 70% (v/v)
- Sarung tangan lateks

Prosedur pra-eksperimen

- Sterilkan permukaan meja kerja dan semua alat dengan etanol 70%.
- Ambil 1000 µl setiap reagen dan alihkannya ke dalam tiub mikrocentrifuge 1.5 ml yang bersih, yang dipisahkan untuk digunakan secara individu.



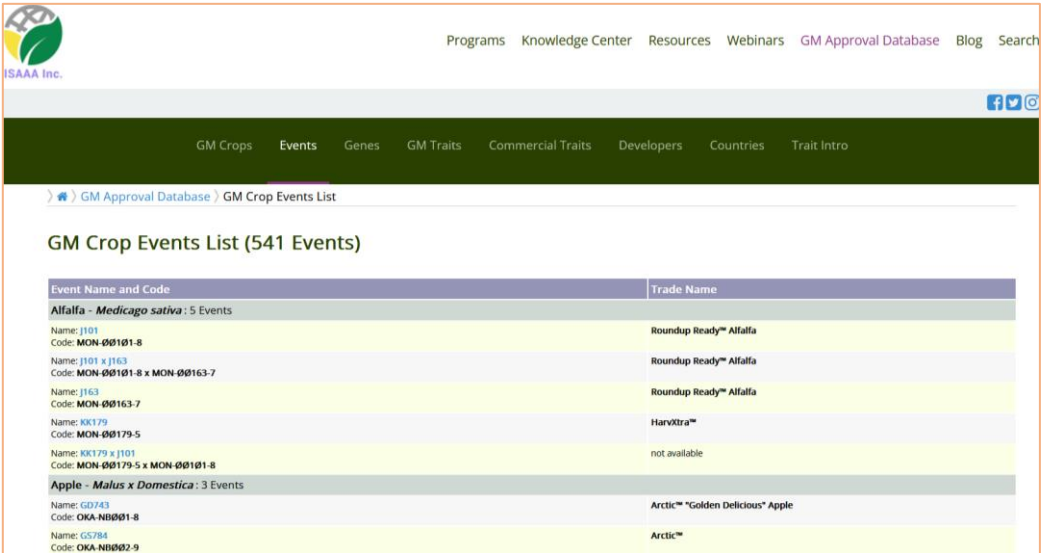
Prosedur

1. Tumbuk kira-kira 1 g sampel makanan sehingga menjadi serbuk kasar.
2. Timbang kira-kira 20 mg (0.02 g) serbuk makanan yang telah dikisar ke dalam tiub mikrosentrifus 1.5 ml.
3. Tambahkan 200 µl **Reagen A** ke dalam tiub.
4. Inkubasikan campuran pada suhu bilik selama 5 minit, dengan sesekali mengendalikan tiub dengan lembut.
5. Selepas inkubasi 5 minit, biarkan tiub berdiri selama 1 minit pada suhu bilik.
6. Tambahkan 190 µl **Reagen B** ke dalam tiub bersih yang berasingan.
7. Kumpulkan 10 µl supernatan dan pindahkan ke dalam tiub yang mengandungi 190 µl **Reagen B**. Campurkan larutan dengan membalikkan tiub sebanyak 4–6 kali.

Rajah 4.7. Garis panduan kit pengekstrakan DNA (Kaedah C).

4.4 Data Eksperimen dan Hasil – Fasa 2: Pembangunan Ujian LAMP

(A)

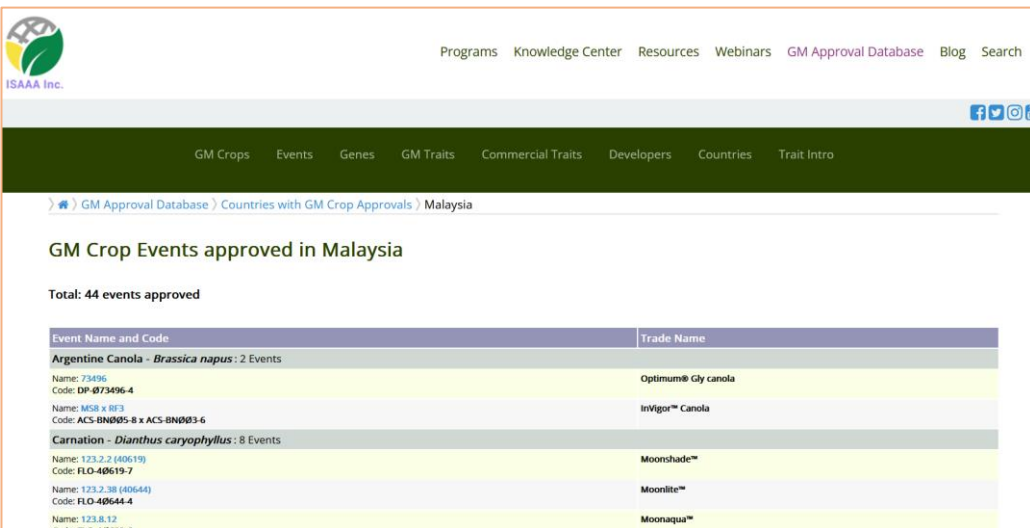


Event Name and Code	Trade Name
Alfalfa - <i>Medicago sativa</i> : 5 Events	
Name: J101 Code: MON-00101-8	Roundup Ready™ Alfalfa
Name: J101 x J163 Code: MON-00101-8 x MON-00163-7	Roundup Ready™ Alfalfa
Name: J163 Code: MON-00163-7	Roundup Ready™ Alfalfa
Name: KK179 Code: MON-00179-5	HarVista™
Name: KK179 x J101 Code: MON-00179-5 x MON-00101-8	not available
Apple - <i>Malus x Domestica</i> : 3 Events	
Name: G0743 Code: OKA-NB001-8	Arctic™ "Golden Delicious" Apple
Name: G5784 Code: OKA-NB002-9	Arctic™

Approved GMO events (541 events; International)

Beras (<i>Oryza sativa</i>)	= 8 events
Gandum (<i>Triticum aestivum</i>)	= 2 events
Jagung (<i>Zea mays</i>)	= 244 events
Kacang Soya (<i>Glycine max</i>)	= 43 events

(B)



Event Name and Code	Trade Name
Argentine Canola - <i>Brassica napus</i> : 2 Events	
Name: 73496 Code: DP-073496-4	Optimum® Gly canola
Name: MS8 x RF3 Code: ACS-BN005-8 x ACS-BN003-6	Invigor™ Canola
Carnation - <i>Dianthus caryophyllus</i> : 8 Events	
Name: 123.2.2 (40619) Code: FLO-40619-7	Moonshade™
Name: 123.2.38 (40644) Code: FLO-40644-4	Moonlite™
Name: 123.8.12 Code: FLO-40600-6	Moonaqua™

Approved GMO events (44 events; Malaysia)

Beras (<i>Oryza sativa</i>)	= 0 event
Gandum (<i>Triticum aestivum</i>)	= 0 event
Jagung (<i>Zea mays</i>)	= 18 events
Kacang Soya (<i>Glycine max</i>)	= 11 events

Adapted from <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/eventslist>

Rajah 4.8. Senarai peristiwa tanaman GM yang diluluskan. (A) di seluruh dunia dan (B) di Malaysia. Data ini diperoleh dari pangkalan data kelulusan GM dari *International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA)* (<https://www.isaaa.org/gmapproval/database/eventslist>; last updated 13 January 2023).

Jadual 4.6. Senarai elemen *LMO* terpilih yang menjadi sasaran untuk pembangunan ujian *LAMP*.

No.	Jenis Elemen <i>LMO</i>	Sasaran Genetik	Aplikasi dalam pengesanan <i>LMO</i>	Rujukan
1.	<i>Promoter</i>	<i>Cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter (P35S)</i>	Beras, Gandum, Jagung, Kacang Soya, Kapas, Kanola, Kentang, Tomato, Betik, Plum.	Al-Hmoud <i>et al.</i> , 2014; Debode <i>et al.</i> , 2013; Holden <i>et al.</i> , 2010; Singh <i>et al.</i> , 2019
2.	<i>Terminator</i>	<i>Nopaline synthase terminator (T-Nos) from Agrobacterium tumefaciens</i>	Beras, Jagung, Kacang Soya, Kapas, Kentang, Tomato, Betik, Plum.	Debode <i>et al.</i> , 2013; Holden <i>et al.</i> , 2010; Singh <i>et al.</i> , 2019

Jadual 4.7. Rincian eksperimental dari ujian *LAMP* untuk deteksi *CaMV P35S*.

Elemen	Rincian
Sekuen Primer <i>LAMP</i>	
a) <i>Forward outer primer (F3):</i>	5'-AGGAAGGGTCTTGCG-3'
b) <i>Reverse outer primer (B3):</i>	5'-ATAAAGGAAAGGCCATCG-3'
c) <i>Forward inner primer (FIP):</i>	5'-GTCTTCAAAGCAAGTGGTTTTGGATAGTG GGATTGTGCG-3'
d) <i>Reverse inner primer (BIP):</i>	5'-TTCCACGATGCTCCTCGTTTTCTCTGCCG ACAGTGG-3'
e) <i>Forward loop primer (FLP):</i>	5'-TCCACTGACGTAAGGG-3'
f) <i>Reverse loop primer (BLP):</i>	5'-GGGGTCCATCTTTGGG-3'
<i>Targeted conserved sequence</i>	AGGAAGGGTCTTGCGAAGGATAGTGGGATT GTGCGTCATCCCTTACGTCAGTGGAGATATC ACATCAATCCACTTGCTTTGAAGACGTGGTT GGAACGTCTTCTTTTTCCACGATGCTCCTCGT GGGTGGGGGTCCATCTTTGGGACCACTGTCTG GCAGAGGCATCTTCAACGATGGCCTTTCCTT TAT

Reka bentuk *primer* dirujuk daripada Hardinge *et al.* (2018) dan Lee *et al.* (2009).

Jadual 4.8. Rincian eksperimental dari ujian *LAMP* untuk deteksi *T-Nos*.

Elemen	Rincian
Sekuen Primer <i>LAMP</i>	
g) <i>Forward outer primer (F3):</i>	5'-CGCGATAATTTATCCTAGTTTG-3'
h) <i>Reverse outer primer (B3):</i>	5'-CGTTCAAACATTTGGCAAT-3'
i) <i>Forward inner primer (FIP):</i>	5'-GCATGACGTTATTTATGAGATTTTTCGCG CTATATTTTGTTTTCTA-3'
j) <i>Reverse inner primer (BIP):</i>	5'-CATGCTTAACGTAATTCAACATTTTGGAA TCCTGTTGCCGGTC-3'
k) <i>Forward loop primer (FLP):</i>	5'-GATTAGAGTCCCGCAATTATAC-3'
l) <i>Reverse loop primer (BLP):</i>	5'-AAATTATATGATAATCATCGCAA-3'
<i>Targeted conserved sequence</i>	CATAGATGACACCGCGCGCGATAATTTATC CTAGTTTGCGCGCTATATTTTGTTTTCTATC GCGTATTAAATGTATAATTGCGGGACTCTA ATCATAAAAACCCATCTCATAAATAACGTC ATGCATTACATGTTAATTATTACATGCTTA ACGTAATTCAACAGAAATTATATGATAATC ATCGCAAGACCGGCAACAGGATTCAATCTT AAGAACTTTATTGCCAAATGTTTGAACGA TC

Reka bentuk *primer* dirujuk daripada Hardinge *et al.* (2018) dan Lee *et al.* (2009).

4.5 Prototaip Akhir – Kit Ujian *Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)*



Rajah 4.9. Susunan kit ujian *loop-mediated isothermal amplification (LAMP)*.

Prinsip

Kit ujian *loop-mediated isothermal amplification (LAMP)* direka untuk pengesanan dua elemen *LMO* yang khusus – *Cauliflower mosaic virus 35S promoter (CaMV P35S)* dan *Agrobacterium tumefaciens nopaline synthase terminator (T-Nos)*. Kit ujian ini merangkumi set reagen yang berasingan, direka khas untuk pengesanan individu *CaMV P35S* dan *T-Nos*. Amplifikasi *DNA* dilakukan dengan menggunakan set yang khusus, iaitu enam *primer LAMP* yang menargetkan elemen *LMO*, dan *Bst polymerase* dengan aktiviti penggantian strand tinggi, semuanya di bawah keadaan *isothermal*. Amplifikasi yang berjaya dikesan secara visual melalui perubahan warna yang boleh dilihat yang difasilitasi oleh pewarnaan *malachite green*.

Prosedur

Pengesanan *CaMV P35S* dan *T-Nos* dari sampel makanan menggunakan kit ujian *LAMP* adalah prosedur yang mudah yang melibatkan penyediaan reagen dengan menambah pewarna *malachite green* ke dalam larutan campuran utama. Seterusnya, templat *DNA* dari sampel makanan, yang disediakan menggunakan kit pengekstrakan *DNA* (Kaedah A dan C), ditambahkan. Campuran tindak balas dilapisi dengan minyak mineral untuk mengurangkan pencemaran berterusan dan mencegah penyejatan reagen semasa inkubasi tiub. Kemudian, tiub tindak balas dibiarkan inkubasi pada suhu 65°C selama 60 minit, dan perubahan warna diperhatikan.

Penyimpanan

Kit ujian *LAMP* perlu disimpan kering pada suhu bilik (15-25°C) selama tempoh maksimum satu bulan tanpa menunjukkan sebarang pengurangan dalam prestasi dan kualiti. Simpan

Reagen A (*Master mix*) secara berasingan pada suhu -20°C dan elakkan *freeze thaw cycle* secara berganda.

Maklumat Keselamatan

Apabila mengendalikan bahan kimia, adalah penting untuk memakai baju makmal yang sesuai, sarung tangan buang, dan kasut berujung tertutup.

Kandungan Kit

Jadual 4.9. Kandungan kit ujian *LAMP*.

Item	Unit
Manual	1
<i>Heating block</i>	1
<i>Vortex mixer</i>	1
<i>Mini centrifuge</i>	1
Rak tiub 0.2 ml	4
Reagen A - <i>CaMV P35S*</i>	12
Reagen A – <i>T-Nos*</i>	12
Reagen B	2
Reagen C	2
<i>Nuclease-free water</i> (dalam tiub 0.2 ml)	24
<i>Nuclease-free water</i> (dalam tiub 50 ml)	1
Tiub mikrosentrifus 1.5 ml	24

* Simpan Reagen A (*Master mix*) secara berasingan pada suhu -20°C dan elakkan *freeze thaw cycle* secara berganda.

Peralatan, reagen, dan barang guna yang perlu dibekalkan oleh pengguna

- Mikropipet isipadu boleh ubah untuk 0.5–10 µl and 100–1000 µl
- Ujung pipet untuk 10 µl and 1000 µl
- 70% Etanol
- Sarung tangan lateks

Penyediaan

Ujian *LAMP* hendaklah dijalankan di dalam kawasan bersih yang berasingan daripada kawasan pengeluaran *DNA* untuk mengelakkan pencemaran pada kit ujian *LAMP*.

Nota Penting

- Sterilkan meja kerja dengan 70% etanol sebelum dan selepas ujian *LAMP*.
- Pertahankan satu set peralatan, reagen, dan barang guna yang berasingan untuk ujian *LAMP* untuk menghapuskan risiko pencemaran kepada ujian *LAMP*.
- Selepas ujian *LAMP*, lakukan penyahpestisan pada rak tiub 0.2 ml dengan merendamnya dalam 10% larutan pemutih semalaman.

Komponen-komponen reagen dalam tindak balas LAMP

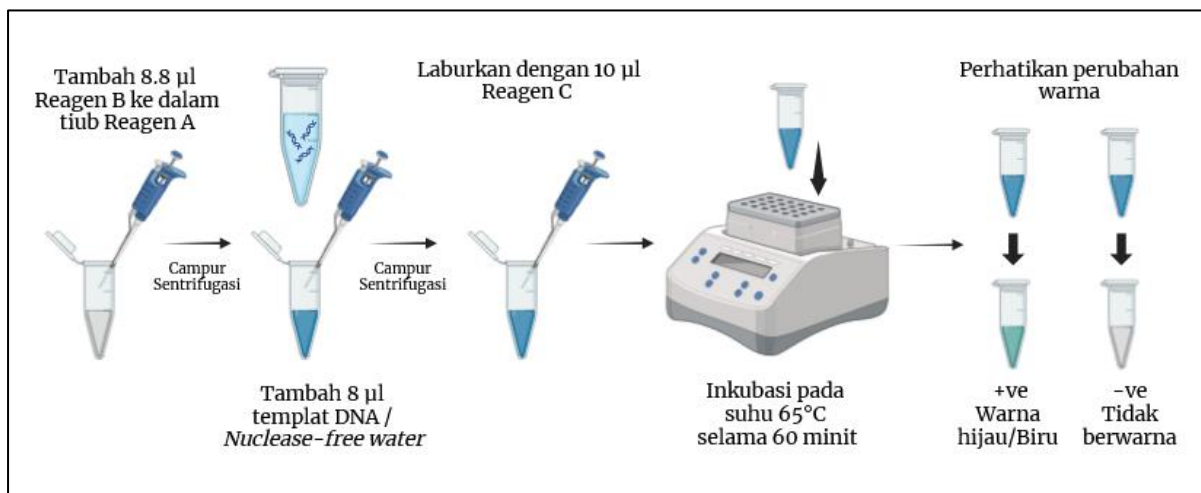
Jadual 4.10. Komponen-komponen reagen dalam tindak balas LAMP.

No.	Komponen	Kepekatan	Kepekatan Akhir	Isipadu per tindak balas (µl)
1*	<i>Isothermal amplification buffer</i>	10X	1X (Mengandungi 2 mM MgSO ₄)	5.0
2*	<i>Magnesium sulfate (MgSO₄)</i>	100 mM	6 mM (Jumlah 8 mM)	3.0
3*	<i>Deoxynucleotide (dNTP) solution mix</i>	10 mM	1.4 mM each	7.0
4*	<i>Forward inner primer (FIP)</i>	100 µM	0.8 µM	0.4
5*	<i>Reverse inner primer (RIP)</i>	100 µM	0.8 µM	0.4
6*	<i>Forward loop primer (FLP)</i>	10 µM	0.2 µM	2.0
7*	<i>Reverse loop primer (BLP)</i>	10 µM	0.2 µM	2.0
8*	<i>Forward outer primer (F3)</i>	10 µM	0.4 µM	1.0
9*	<i>Reverse outer primer (B3)</i>	10 µM	0.4 µM	1.0
10*	<i>Bst 2.0 WarmStart DNA polymerase</i>	8,000 U/ ml	320 U/ ml	2.0
11	<i>Malachite green dye solution (Reagent B)</i>	1 mM	175 µM	8.8
12	<i>DNA template</i>			8.0
13*	<i>Nuclease-free water</i>		Top up to 50 µl	9.4
Jumlah isipadu tindak balas keseluruhan (µl)				50.0

* Komponen yang telah dicampurkan terlebih dahulu dalam **Reagen A** (*Master mix*).

Protokol

1. Tambahkan 8.8 µl Reagen B ke dalam tiub Reagen A (*Master mix*). Campurkan dengan baik dan putar (sentrifugasi) sekali.
2. Tambahkan 8 µl templat DNA atau *Nuclease-free water* (untuk kawalan negatif) ke dalam tiub. Campurkan dengan baik dan putar (sentrifugasi) sekali.
3. Laburkan dengan lembut master mix dengan 10 µl Reagen C.
4. Inkubasikan tiub pada suhu 65°C selama 60 minit.
5. Perhatikan sebarang perubahan warna yang berlaku. Amplifikasi dapat dilihat secara visual dengan perubahan pewarnaan menggunakan pewarna warna (*Malachite green*). Sampel positif akan menunjukkan warna hijau/biru *Malachite green*, manakala sampel negatif akan kekal tidak berwarna.



Rajah 4.10. Carta aliran kit ujian *LAMP*.



UNIVERSITI
MALAYA



DEPT. BIOKESELAMATAN

Kit Ujian Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)

Untuk pengesanan *Cauliflower mosaic virus 35S promoter (CaMV P35S)* dan *Agrobacterium tumefaciens nopaline synthase terminator (T-Nos)*

Kandungan kit

Peralatan

- Heating block
- Vortex mixer
- Mini centrifuge with rotor for 1.5 ml tubes and 0.2 ml tubes
- Rak tiub 0.2 ml

Reagen

- Reagen A* (Master mix)
- Reagen B (1 mM Malachite green dye solution)
- Reagen C (Mineral oil)
- Nuclease-free water

Barang guna habis

- Tiub mikrocentrifuge 1.5 ml

Penyimpanan

Kit ini perlu disimpan kering pada suhu bilik (15-25°C) selama tempoh maksimum satu bulan. *Simpan Reagen secara berasingan pada suhu -20°C selama maksimum 1 bulan.

Peralatan, Reagen, dan Barang guna habis yang perlu dibekalkan oleh pengguna

- Mikropipet isipadu boleh ubah untuk 0.5–10 µl dan 100–1000 µl
- Ujung pipet 10 µl dan 1000 µl
- Etanol 70% (v/v)
- Sarung tangan lateks

Prosedur pra-eksperimen

- Panaskan *heating block* pada suhu 65°C. Letakkan tiub mikrosentrifus 1.5 ml pada *heating block* dan tambahkan air secukupnya untuk inkubasi tiub.
- Cairkan **Reagent A** di atas ais.
- Sterilkan permukaan meja kerja dan semua alat dengan etanol 70%.

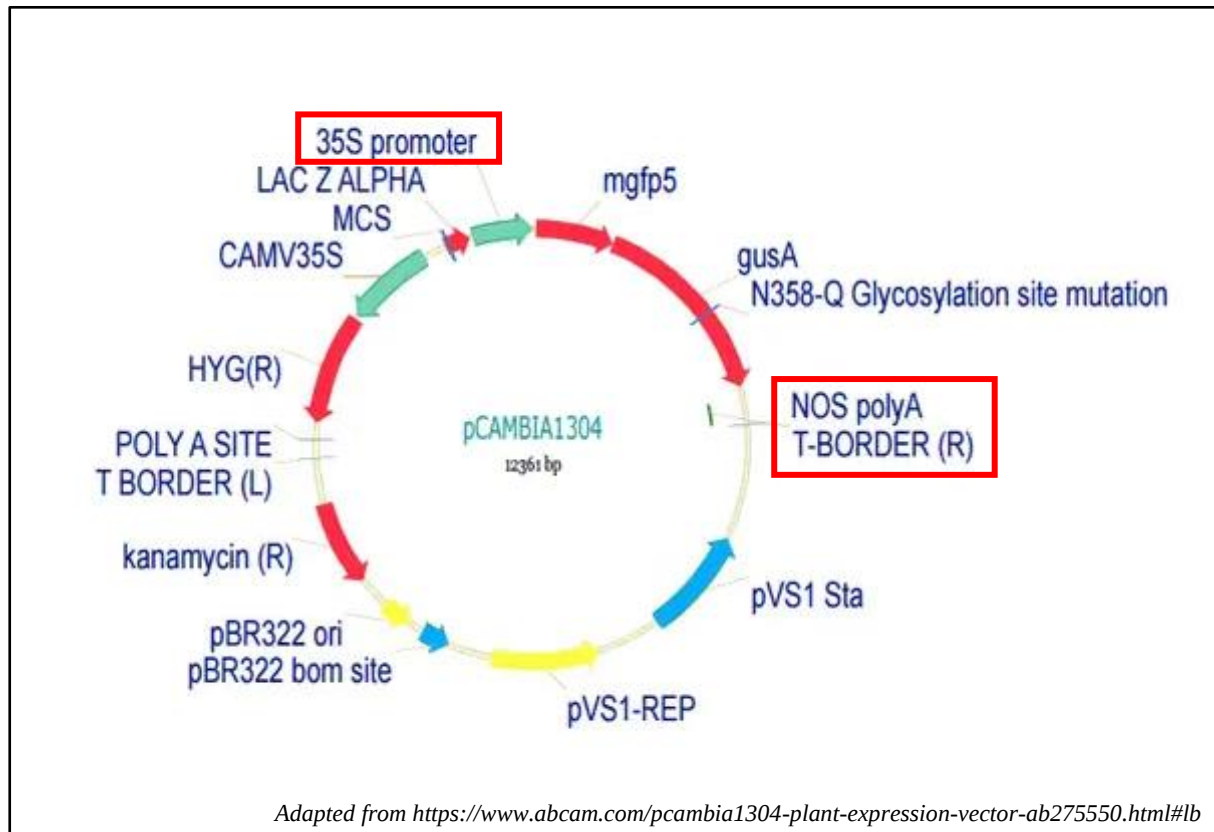


Prosedur

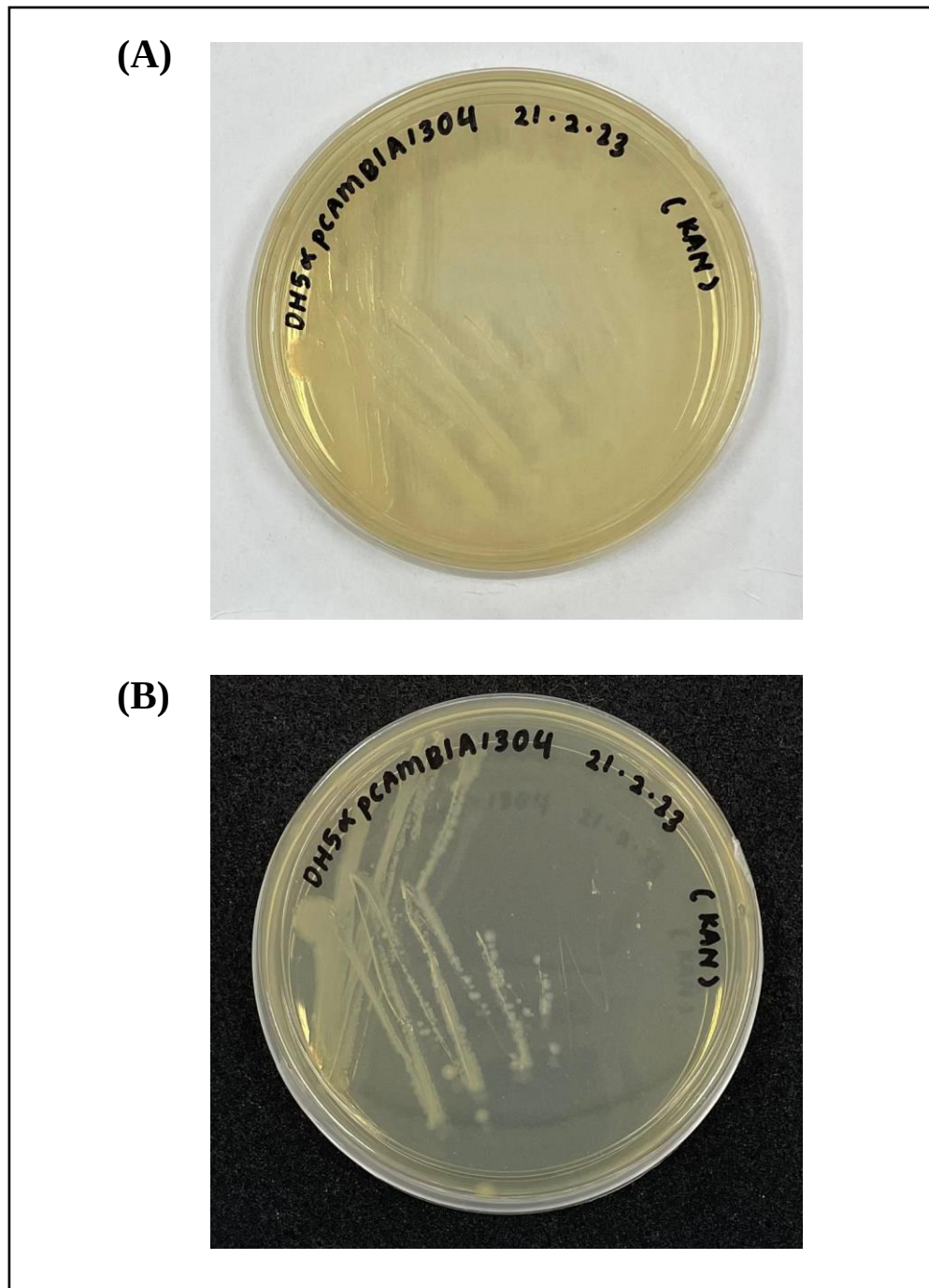
1. Tambahkan 8.8 µl **Reagen B** ke dalam tiub **Reagen A** (Master mix). Campurkan dengan baik dan putar (sentrifugasi) sekali.
2. Tambahkan 8 µl templat DNA atau Nuclease-free water (untuk kawalan negatif) ke dalam tiub. Campurkan dengan baik dan putar (sentrifugasi) sekali.
3. Laburkan master mix dengan 10 µl **Reagen C**.
4. Inkubasikan tiub pada suhu 65°C selama 60 minit.
5. Perhatikan sebarang perubahan warna yang berlaku. Amplifikasi dapat dilihat secara visual dengan perubahan pewarnaan menggunakan pewarna warna (Malachite green). Sampel positif akan menunjukkan warna hijau/biru Malachite green, manakala sampel negatif akan kekal tidak berwarna.

Rajah 4.11. Gambaran keseluruhan manual untuk kit ujian LAMP.

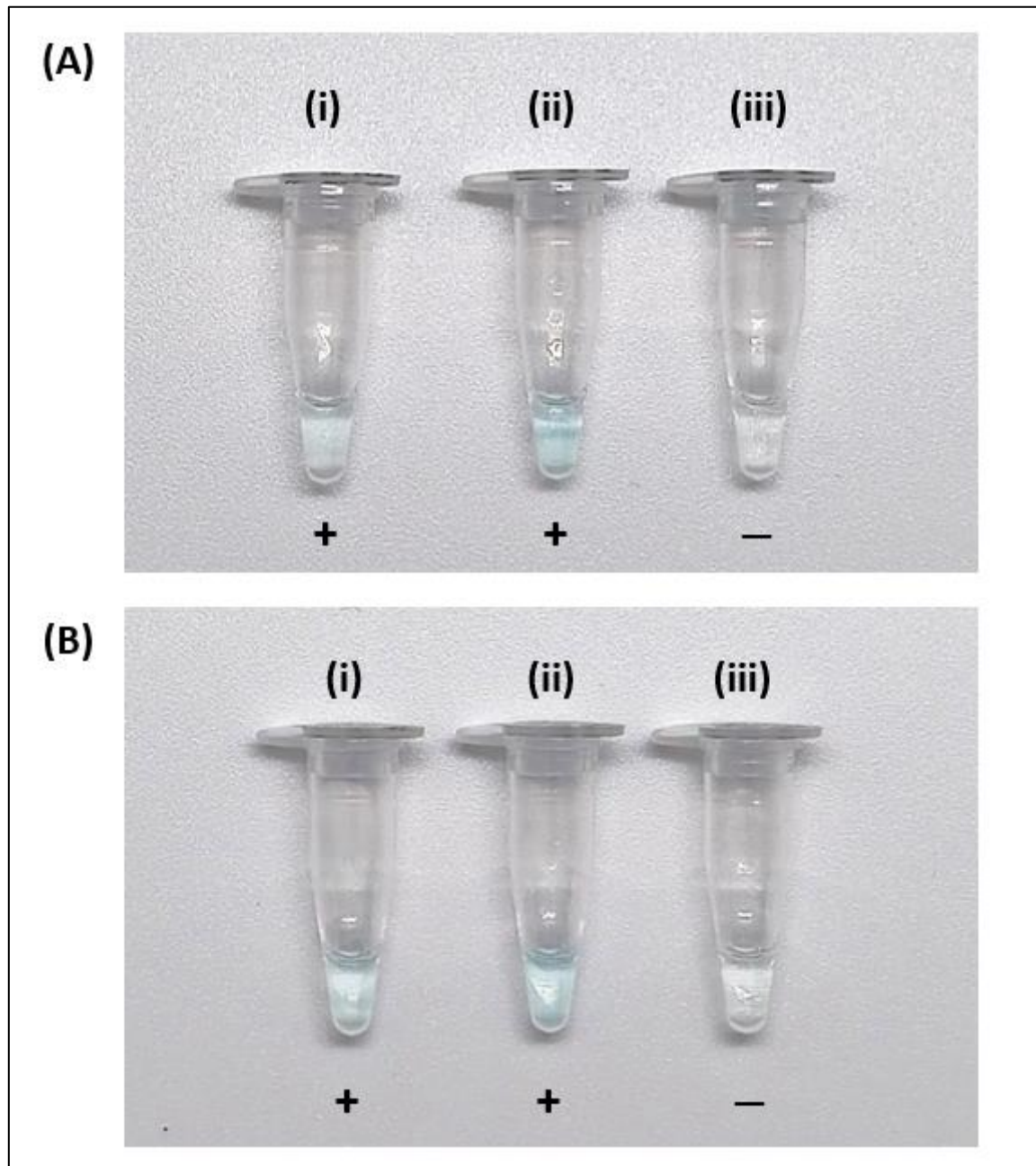
4.6 Data Eksperimental dan Hasil – Fasa 3: Penentuan Sensitiviti dan Spesifisiti Kit Ujian *LAMP*



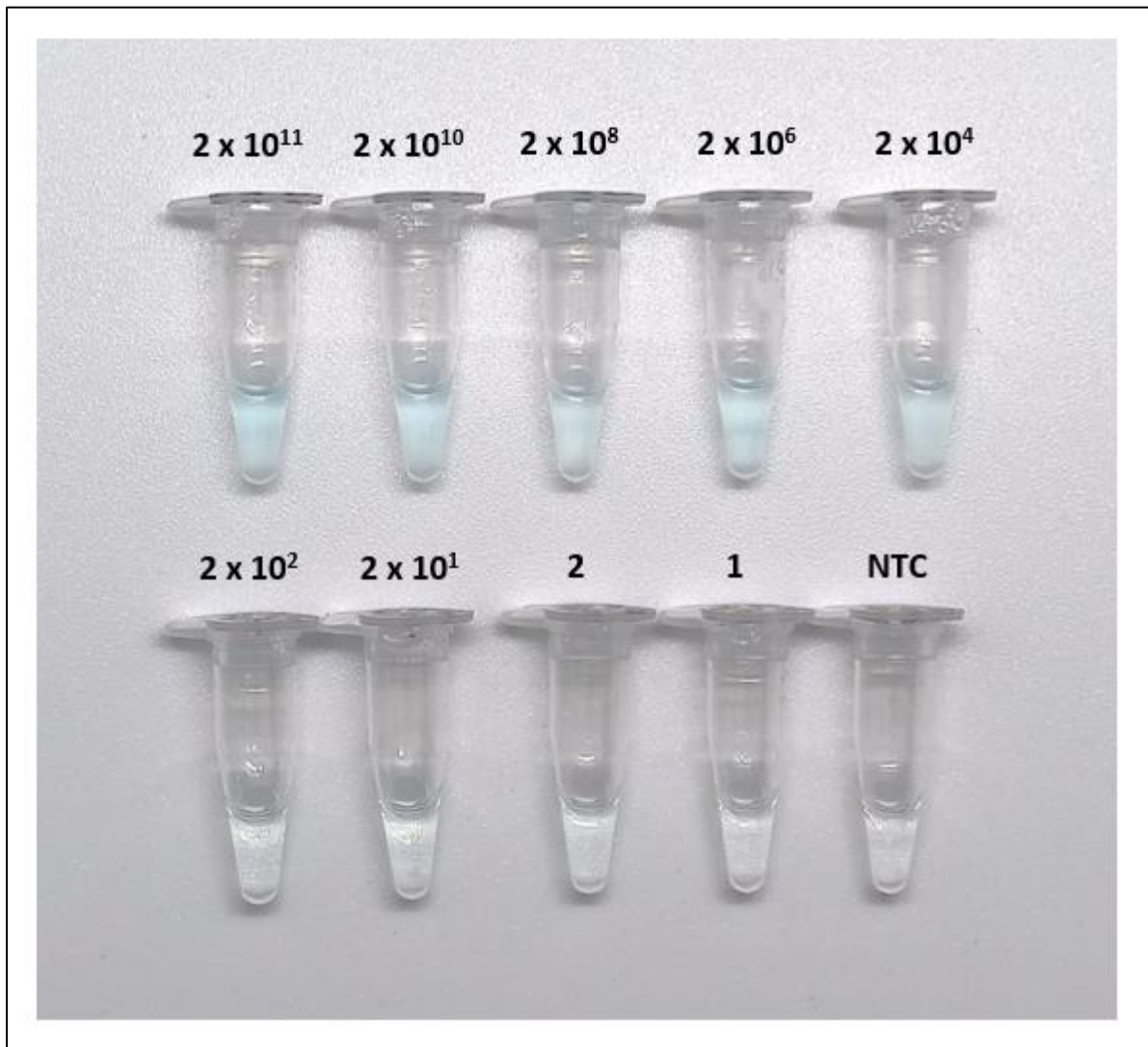
Rajah 4.12. Representasi skematik vektor ekspresi tumbuhan pCambia1304. Elemen-elemen *LMO* yang dipilih dan menjadi sasaran untuk pembangunan ujian *LAMP* yang hadir dalam vektor pCambia1304 telah ditandakan dalam kotak-kotak merah.



Rajah 4.13. Koloni-koloni bakteria mengandungi vektor ekspresi tumbuhan pCambia1304. Vektor ekspresi tumbuhan pCambia1304 disimpan dan dibiakkan dalam *Escherichia coli*, yang tumbuh pada plat agar *Luria-Bertani* (LB) dan divisualisasikan dengan (A) latar belakang putih dan (B) latar belakang hitam.



Rajah 4.14. Hasil ujian awal kit ujian *LAMP*. Perubahan warna ujian *LAMP* untuk pengesanan elemen *LMO CaMV P35S* (A) dan *T-Nos* (B) dalam sampel (i) kacang soya 170, (ii) plasmid pCambia 1304 (kawalan positif), dan (iii) *nuclease-free water* (kawalan negatif). Sampel positif menunjukkan warna hijau/biru *malachite green*, manakala sampel negatif kekal tidak berwarna.



Rajah 4.15. Sensitiviti kit ujian LAMP untuk pengesanan *CaMV P35S*. Perubahan warna ujian LAMP untuk kawalan positif, plasmid pCambia1304, diperhatikan dalam siri pencairan yang berkisar dari 2×10^{11} hingga *single copy target gene concentration*. Sampel positif menunjukkan warna hijau/biru *malachite green*, manakala sampel negatif kekal tidak berwarna. NTC, *Negative template control*.

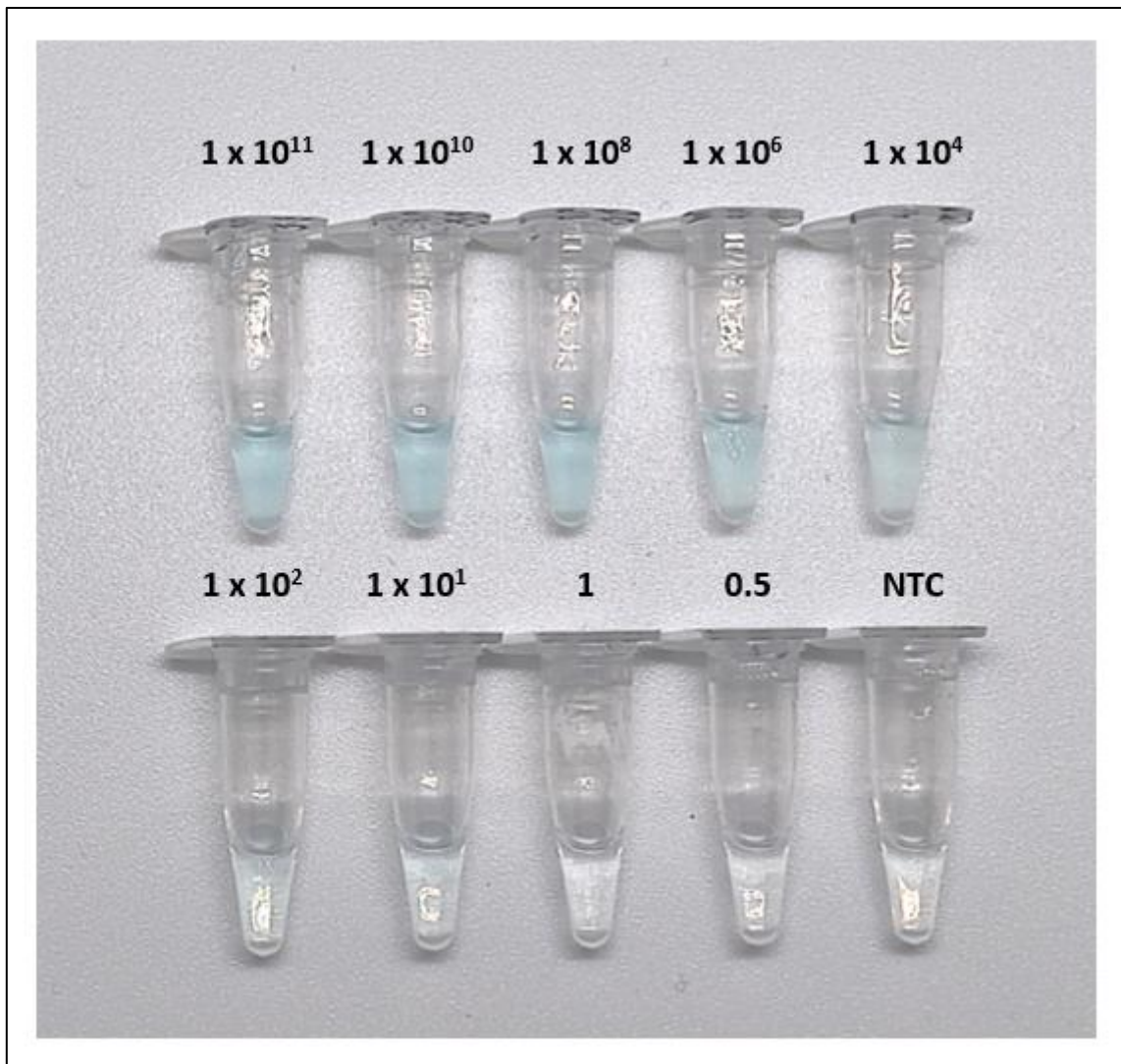
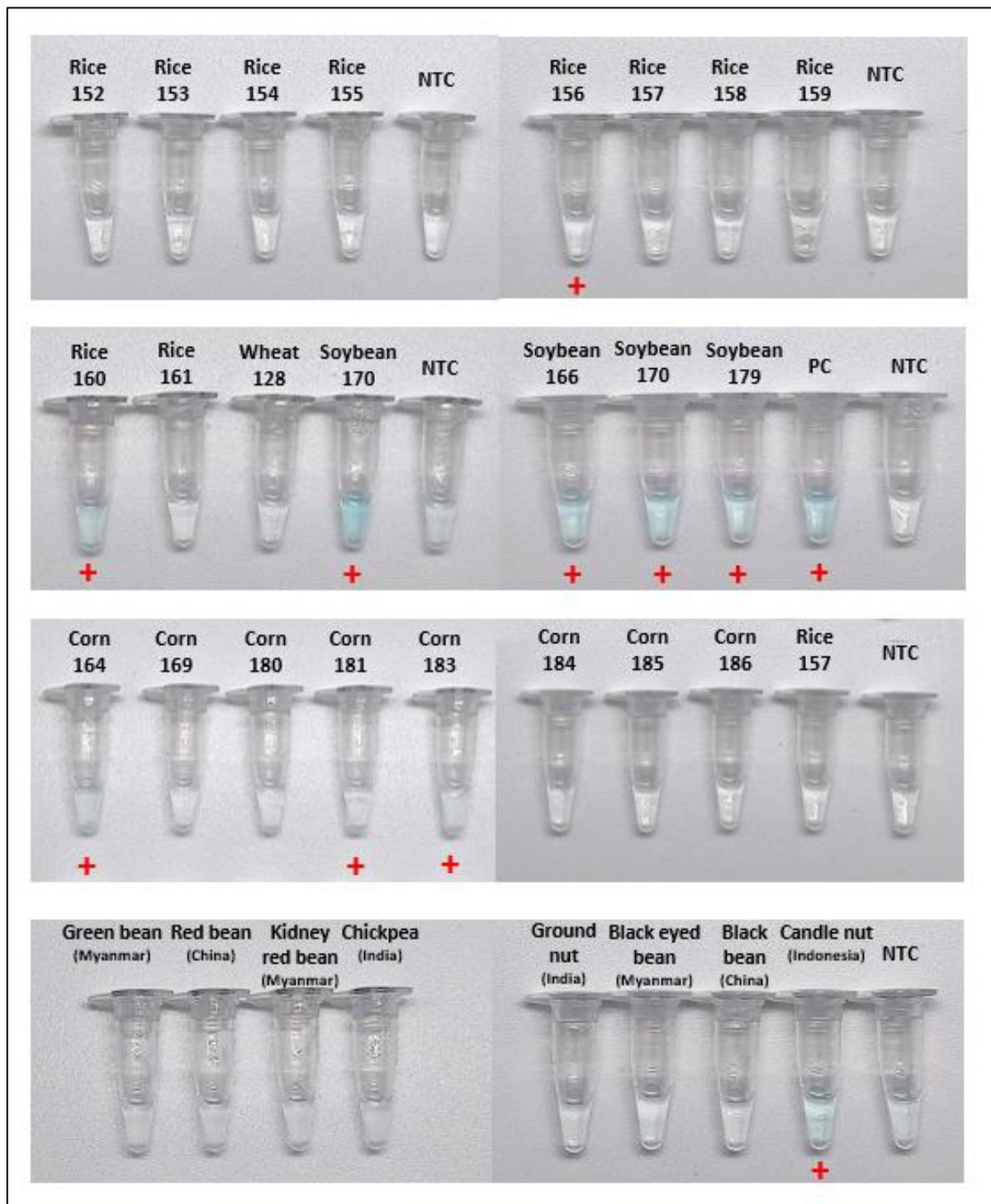


Figure 4.16. Sensitiviti kit ujian *LAMP* untuk pengesanan *T-Nos*. Perubahan warna ujian *LAMP* untuk kawalan positif, plasmid pCambia1304, diperhatikan dalam siri pencairan yang berkisar dari 1×10^{11} hingga 0.5 *copy target gene concentration*. Sampel positif menunjukkan warna hijau/biru *malachite green*, manakala sampel negatif kekal tidak berwarna. *NTC*, *Negative template control*.

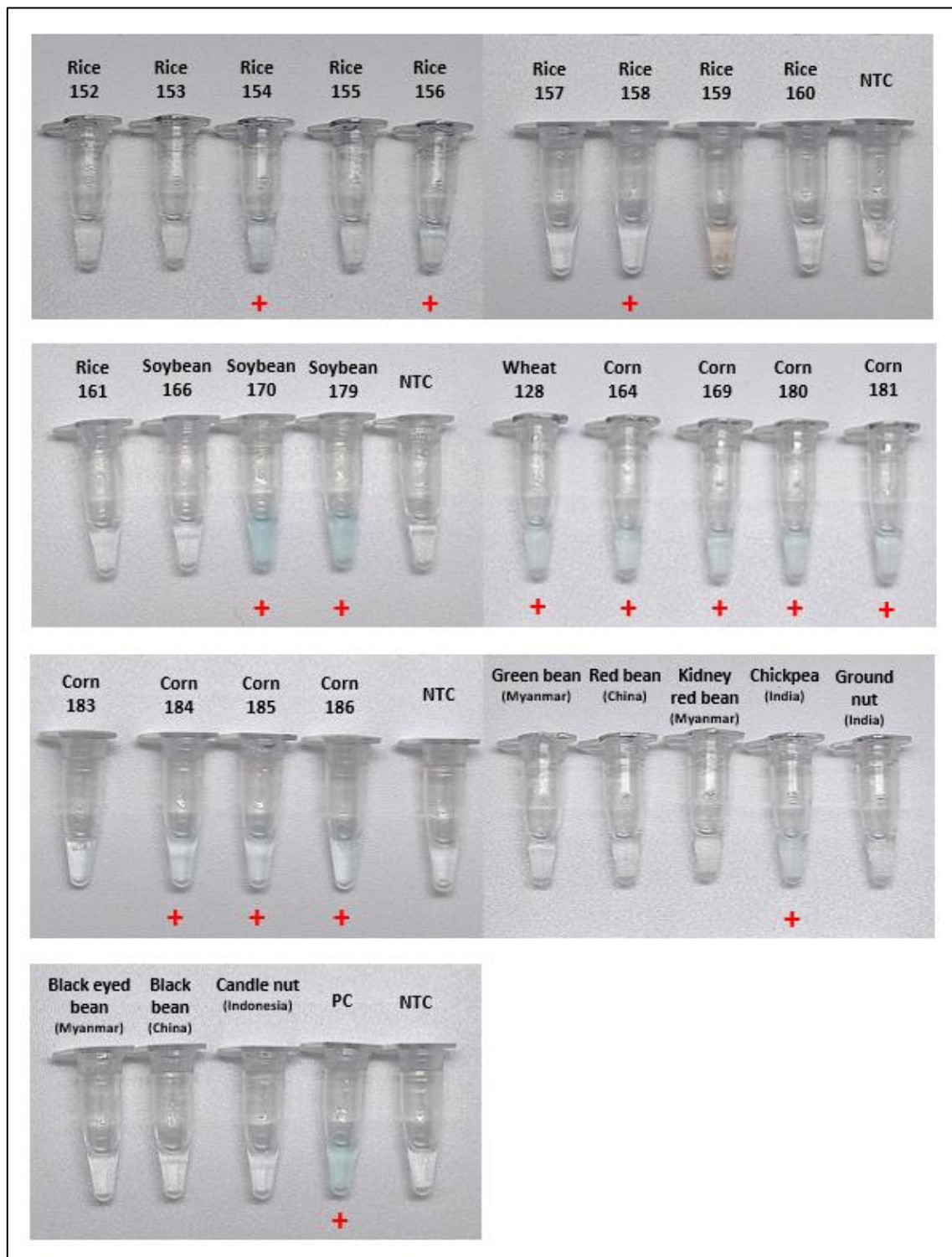
Jadual 4.11. Spesifisiti ujian *LAMP* pada sampel makanan yang disediakan.

Ujian/ Sampel	Elemen <i>LMO</i>	
	<i>CaMV P35S</i>	<i>T-Nos</i>
<u>Beras</u>		
152	—	—
153	—	—
154	—	+
155	—	—
156	+	+
157	—	—
158	—	+
159	—	—
160	+	—
161	—	—
<u>Gandum</u>		
128	—	+
<u>Jagung</u>		
164	+	+
168	—	+
180	—	+
181	+	+
183	+	—
184	—	+
185	—	+
185	—	+
<u>Kacang Soya</u>		
166	+	—
170	+	+
179	+	+
<u>Sampel makanan lain (Dalam pasaran)</u>		
<i>Green bean</i>	—	—
<i>Red bean</i>	—	—
<i>Kidney red bean</i>	—	—
<i>Chickpea</i>	—	+
<i>Ground nut</i>	—	—
<i>Black eyed bean</i>	—	—
<i>Black bean</i>	—	—
<i>Candle nut</i>	+	—

Tanda - menunjukkan pengesanan negatif, manakala + menunjukkan pengesanan positif.



Rajah 4.17. Spesifisiti ujian *LAMP* untuk pengesanan elemen *LMO CaMV P35S*. + menunjukkan sampel berubah warna hijau/biru *malachite green* semasa pengesanan elemen *LMO CaMV P35S*. *NTC*, *Negative template control*; *PC*, *Positive control*.



Rajah 4.18. Spesifisiti ujian LAMP untuk pengesanan elemen LMO T-Nos. + menunjukkan sampel berubah warna hijau/biru *malachite green* semasa pengesanan elemen LMO T-Nos. NTC, Negative template control; PC, Positive control.

BAB 5

PERBINCANGAN

5.1 Konseptualisasi, Reka Bentuk Kerangka, dan Pengumpulan Sampel

Konseptualisasi dan perbincangan merupakan langkah penting yang melibatkan pengenalpastian dan analisis terperinci terhadap konsep utama yang penting dalam topik penyelidikan untuk membentuk dan struktur idea penyelidikan yang baik. Beberapa mesyuarat telah diadakan dengan Jabatan Biokeselamatan Malaysia dan Jabatan Kimia Malaysia untuk membincangkan butiran eksperimen kerja ini. Perbincangan ini melibatkan pertemuan dengan pihak berkuasa dan pakar lapangan yang berkaitan, serta perkongsian pendapat dan cadangan mereka yang bertujuan untuk memahami secara mendalam topik penyelidikan dan memperbaiki reka bentuk eksperimen kajian ini. Perbincangan melibatkan sampel makanan yang diuji, kawalan *LMO* positif/negatif yang disahkan, serta elemen *LMO* yang dijadualkan untuk reka bentuk *primer LAMP*. Komen dan cadangan yang berkaitan telah didokumentasikan (Jaduals S1–S6) dan digabungkan dalam pelan eksperimen. Selain itu, sampel makanan asas yang disediakan oleh Jabatan Biokeselamatan Malaysia telah diterima, didokumentasikan, dan disimpan dengan sewajarnya di lokasi tertentu di makmal UMCP, bangunan HIR, Universiti Malaya. Senarai sampel untuk dua set sampel makanan dimasukkan dalam lampiran 4 - Senarai Sampel.

5.2 Prototaip Terakhir – Kit Pengestrakan DNA (Kaedah A dan C)

Pengestrakan *DNA* adalah teknik molekul asas yang digunakan untuk mengasingkan *DNA* daripada sampel biologi dengan menggunakan kaedah fizikal dan/atau kimia, memisahkan *DNA* daripada membran sel, protein, dan komponen sel lain. Kaedah konvensional

pengestrakan *DNA* sering melibatkan pemusingan dan pemendakan, yang agak memakan masa, mahal, dan memerlukan penggunaan bahan kimia berbahaya (contohnya, fenol dan kloroform) serta peralatan yang canggih (contohnya, bekas nitrogen cecair dan *high-speed centrifuge*). Kaedah-kedah ini mungkin tidak sesuai untuk kerja lapangan dalam persekitaran dengan sumber terhad yang memerlukan peralatan, bahan kimia, dan masa yang terhad untuk ujian. Oleh itu, prosedur yang mudah dan boleh digunakan di lapangan untuk mengestrak *DNA* dengan kualiti yang sesuai daripada sampel makanan asas diperlukan untuk digunakan dalam kajian ini.

Sejumlah tiga kaedah pengestrakan *DNA* yang cepat dan mudah berdasarkan pelbagai penerbitan telah dipilih untuk analisis. Pengestrakan *DNA* telah dijalankan ke atas semua sampel ujian yang diterima daripada Jabatan Biokeselamatan Malaysia (Batch 1: 11 dan Batch 2: 11; $N = 22$) menggunakan tiga kaedah pengestrakan *DNA* yang dipilih (Kaedah A–C). Konsentrasi anggaran dan nisbah serapan 260/280 *DNA* yang diekstrak bagi sampel telah direkodkan (Jadual 4.1). Dari hasil ini, sampel *DNA* yang diekstrak dari Kaedah A (25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA) dan C (500 mM NaOH) mempunyai nisbah 260/280 yang lebih tinggi secara berbanding dengan Kaedah B (1% Triton X-100). Selain itu, kaedah-kaedah ini (A & C) juga menghasilkan konsentrasi *DNA* yang mencukupi dengan baik bagi sampel (berkisar dari 0.1–1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) yang sesuai untuk analisis seterusnya (Jadual 4.1). Seterusnya, sampel-sampel *DNA* yang diekstrak telah diuji untuk kestabilan pada selang masa pasca-eksperimen yang berbeza (pasca 24, 48, dan 72 jam) dan syarat penyimpanan yang berbeza (4°C dan 37°C) (Jadual 4.2–4.3). Keseluruhannya, sampel *DNA* yang diperolehi dari Kaedah A (25 mM NaOH & 0.2 mM EDTA) dan C (500 mM NaOH) memberikan hasil yang konsisten dan diterima sebagai "*pure*" bagi *DNA* dengan nilai nisbah 260/280 lebih mendekati 1.8 bagi semua sampel yang diuji (beras, gandum, jagung, dan kacang soya). Selain itu, perubahan fizikal yang

berkaitan dengan sampel dan penurasan tindak balas bagi setiap kaedah pengestrakan juga diperhatikan dan direkodkan (Jadual 4.4).

Semasa pembangunan prototaip terakhir, Kit Pengestrakan *DNA* (Kaedah A dan C) telah ditubuhkan yang merangkumi dua kaedah pengestrakan *DNA* terpilih, Kaedah A dan Kaedah C. Dalam kaedah-kaedah ini, sampel makanan yang dikisar mengalami lisis dengan reagen lisis alkali dan penetralan selanjutnya dengan agen penetralan, dengan itu memudahkan penyediaan *DNA* yang cepat (Aslani *et al.*, 2017; Narushima *et al.*, 2020). Bagi membantu pengguna menggunakan Kit Pengestrakan *DNA* ini dengan berkesan, satu set dokumen yang komprehensif telah disediakan dalam Bab 4.3 – Prototaip Akhir – Kit Pengestrakan *DNA* (Kaedah A dan C). Dokumen-dokumen ini menawarkan pemahaman terperinci tentang prosedur yang terlibat dan memberikan arahan yang jelas untuk memastikan pengestrakan *DNA* yang berjaya daripada sampel makanan menggunakan Kaedah A dan Kaedah C.

5.3 Prototaip Akhir – Kit Ujian *LAMP*

Dua elemen *LMO*, *Cauliflower mosaic virus 35S promoter (CaMV P35S)* dan *Agrobacterium tumefaciens nopaline synthase terminator (T-Nos)*, telah dipilih sebagai jujukan yang dijadualkan untuk pembangunan ujian *LAMP* (Jadual 4.6). Reka bentuk *primer* yang betul adalah salah satu aspek yang paling penting dalam aplikasi berjaya mereka dalam *PCR*, penjujukan *DNA*, dan hibridisasi. Dalam ujian *LAMP*, sejumlah enam *primer* digunakan untuk mengenal pasti lokus yang berbeza dalam jujukan sasaran. *Primer LAMP* untuk pengesanan *CaMV P35S* dan *T-Nos* telah berjaya dibangunkan (Jadual 4.7 dan 4.8; Hardinge *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2009).

Satu kit ujian *LAMP* berasaskan *malachite green* telah dibangunkan untuk pengesanan elemen-elemen *LMO* *CaMV P35S* dan *T-Nos*. Proses pengembelan *DNA* ini menggunakan satu set khusus enam *primer LAMP* yang direka bentuk untuk menjejaki elemen *LMO*, dan *Bst polymerase*, yang terkenal dengan aktiviti pergeseran strand yang tinggi, semuanya dalam keadaan isoterma. Amplifikasi yang berjaya boleh dikesan secara visual melalui perubahan warna yang dapat dilihat yang dipermudahkan oleh pewarna, *Malachite Green*. Komponen reagen yang diperlukan untuk tindak balas *LAMP* diterangkan dalam Jadual 4.10, dan langkah-langkah yang terlibat dalam ujian *LAMP* digambarkan dalam Gambar 4.10. Informasi komprehensif mengenai ujian *LAMP* ini, bersama dengan gambar dan dokumen sokongan yang relevan, juga dimasukkan dalam Bab 4.5 – Prototaip Akhir – Kit Ujian *Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)*.

5.4 Sensitiviti dan Spesifisiti Kit Ujian *LAMP*

Kedua-dua kawalan positif dan kawalan negatif memainkan peranan penting sebagai penunjuk positif dan negatif dalam ujian *LAMP* untuk memastikan ketepatan dan kebolehpercayaan hasil. Dalam pembangunan ujian *LAMP*, sejenis bahan rujukan dalam rumah, iaitu vektor ekspresi *pCambia1304*, yang mengandungi elemen-elemen *LMO* yang dijadualkan, telah dipilih sebagai kawalan positif (Rajah 4.4). Sebaliknya, *nuclease-free water* digunakan sebagai *negative template control (NTC)* dalam kit ujian ini.

Sensitiviti kit ujian *LAMP* dinilai untuk pengesanan elemen-elemen *LMO CaMV P35S* dan *T-Nos* dengan menggunakan sampel plasmid *pCambia1304* yang diencerkan secara berperingkat, sehingga ke konsentrasi gen sasaran tunggal. Hasil menunjukkan bahawa kit ujian *LAMP* yang dibangunkan dapat berjaya mengesan sehingga 20,000 salinan *CaMV P35S*

(Rajah 4.15) dan 10,000 salinan *T-Nos* (Rajah 4.16) elemen *LMO*, dengan menggunakan pengesanan berdasarkan pewarna *Malachite Green*.

Spesifisiti kit ujian *LAMP* untuk pengesanan elemen-elemen *LMO CaMV P35S* dan *T-Nos* dinilai menggunakan sejumlah 30 sampel makanan. Set ini termasuk 22 sampel makanan yang disediakan oleh Jabatan Biokeselamatan Malaysia dan 8 sampel makanan tambahan yang diperoleh dari pasaran. Hasil menunjukkan bahawa kit ujian tersebut menunjukkan spesifisiti kit ujian adalah 30% (9/30) untuk pengesanan elemen *LMO CaMV P35S* dan 47% (14/30) untuk pengesanan elemen *LMO T-Nos*. Hasil ini akan disokong oleh pengesanan kaedah *PCR* untuk menilai spesifisitasnya dengan lebih lanjut.

BAB 6

KESIMPULAN

Dalam projek penyelidikan ini, konseptualisasi awal dan reka bentuk kerangka melibatkan perbincangan berbilang kali dengan pakar-pakar dari Jabatan Biokeselamatan Malaysia, Jabatan Kimia Malaysia, dan pasukan penyelidikan dari Universiti Malaya. Perbincangan ini memberi tumpuan kepada aspek-aspek penting berkaitan pembangunan kaedah ekstraksi *DNA* dan pengesanan elemen-elemen *LMO* dalam makanan asas. Prototaip akhir, Kit Pengekstrakan *DNA*, telah ditubuhkan, memasukkan kaedah penyediaan *DNA* yang cekap (Kaedah A dan C), membolehkan ekstraksi *DNA* yang cepat dari sampel makanan. Kit Ujian *LAMP* direka untuk pengesanan khusus elemen-elemen *LMO CaMV P35S* dan *T-Nos*, menggunakan pengukuhan berasaskan *Malachite Green* dengan *primer LAMP* yang direka. Kit Ujian *LAMP* telah membuktikan sensitiviti, mampu mengesan serendah 20,000 salinan *CaMV P35S* dan 10,000 salinan *T-Nos*. Spesifisiti kit diuji melalui ujian pada 30 sampel makanan yang berbeza. Penyertaan kawalan positif dan negatif memastikan ketepatan hasil, dengan vektor ekspresi tumbuhan *pCambia1304* berfungsi sebagai kawalan positif dan *nuclease-free water* sebagai kawalan templat negatif. Usaha penyelidikan menyeluruh ini melahirkan alat-alat yang cekap dan tepat untuk ekstraksi *DNA* dan pengesanan *LMO*, kebolehpercayaan hasil ujian *LAMP* diperkuat melalui pengesanan menggunakan kaedah *PCR*, memperkuatkan kebolehpercayaan kit yang dibangunkan.

Seperti banyak kajian lain, penyelidikan ini mempunyai beberapa kelemahan. Ujian *LAMP* menunjukkan had pengesanan yang agak tinggi, terutamanya terhad oleh kaedah pengesanan berasaskan *Malachite Green*, dan mungkin dipengaruhi oleh reka bentuk *primer LAMP* yang tidak spesifik. Selain itu, kit ujian *LAMP* mempunyai tempoh sah yang agak pendek kerana

masa penyimpanan yang terhad bagi master mix yang telah diagihkan dan larutan *Malachite Green* yang telah disediakan. Selain itu, penyediaan kit ujian *LAMP* memerlukan persekitaran yang bersih dan berasingan dengan set peralatan dan bahan yang berbeza, yang perlu disimpan berasingan daripada kawasan ekstraksi *DNA*, kerana ujian *LAMP* sensitif terhadap pencemaran *DNA* yang boleh mengakibatkan hasil positif palsu. Walau bagaimanapun, kelemahan-kelemahan ini boleh dikurangkan melalui pengendalian yang berhati-hati dan dengan menyertakan kawalan positif dan negatif dalam ujian untuk mengesahkan pencemaran atau sah kawalan kit. Penggunaan kaedah berdasarkan *PCR* untuk mengesahkan hasil ujian *LAMP* juga dianggap perlu untuk meningkatkan kebolehpercayaan hasil.

Secara keseluruhan, prototaip yang telah dibangunkan - Kit Pengekstrakan *DNA* (Kaedah A dan C) dan Kit Ujian *LAMP*, mempunyai potensi kegunaan untuk penapisan *LMO* di dalam sampel makanan import. Selain itu, mereka boleh menjadi asas untuk penyelidikan masa depan atau pembangunan kit yang telah disempurnakan untuk digunakan secara rasmi oleh pihak berkuasa yang berkaitan. Kajian lanjut ke atas prototaip yang dicadangkan ini adalah penting untuk meningkatkan prestasi, kepekaan, dan kekhususan kit-kit tersebut.

Rujukan

- Abdul Aziz, M., Brini, F., Rouached, H., & Masmoudi, K. (2022). Genetically engineered crops for sustainably enhanced food production systems. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1027828.
- Adli M. (2018). The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nature Communications*, 9(1), 1911.
- Al-Hmoud, N., Al-Husseini, N., Ibrahim-Alobaide, M. A., Kübler, E., Farfoura, M., Alobydi, H., & Al-Rousan, H. (2014). Unconventional P-35S sequence identified in genetically modified maize. *GM Crops & Food*, 5(1), 58–64.
- Alves Oliveira, D., Tang, J. D., & Warburton, M. L. (2021). Reference gene selection for RT-qPCR analysis in maize kernels inoculated with *Aspergillus flavus*. *Toxins*, 13(6), 386.
- Anderson, J. A., Ellsworth, P. C., Faria, J. C., Head, G. P., Owen, M. D. K., Pilcher, C. D., Shelton, A. M., & Meissle, M. (2019). Genetically engineered crops: Importance of diversified integrated pest management for agricultural sustainability. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 24.
- Aslani, S., Garoosi, G., & Jafary, H. (2017). Using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay and direct DNA extraction method from wood for rapid detection of *Verticillium dahliae* in olive trees. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(2), 727–734.
- Avery, O. T., MacLeod, C. M., & McCarty, M. (1944). Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *Die Entdeckung der Doppelhelix*, 97.
- Baharudin, S. A., & Waked, H. N. (2021). Machinery and technical efficiencies in selected paddy areas in Malaysia. *Pertanika Journal of Social Sciences & Humanities*, 29(4).

- Bauer-Panskus, A., Miyazaki, J., Kawall, K., & Then, C. (2020). Risk assessment of genetically engineered plants that can persist and propagate in the environment. *Environmental Sciences Europe*, 32(1), 1–15.
- Bawa, A. S., & Anilakumar, K. R. (2013). Genetically modified foods: Safety, risks, and public concerns—A review. *Journal of Food science and Technology*, 50(6), 1035–1046.
- Chen, L., Guo, J., Wang, Q., Kai, G., & Yang, L. (2011). Development of the visual loop-mediated isothermal amplification assays for seven genetically modified maize events and their application in practical samples analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 5914–5918.
- Conner, A. J., & Jacobs, J. M. (1999). Genetic engineering of crops as potential source of genetic hazard in the human diet. *Mutation Research*, 443(1–2), 223–234.
- Debode, F., Janssen, E., & Berben, G. (2013). Development of 10 new screening PCR assays for GMO detection targeting promoters (pFMV, pNOS, pSSuAra, pTA29, pUbi, pRice actin) and terminators (t35S, tE9, tOCS, tg7). *European Food Research and Technology*, 236, 659–669.
- Debode, F., Hulin, J., Charloteaux, B., Coppieters, W., Hanikenne, M., Karim, L., & Berben, G. (2019). Detection and identification of transgenic events by next generation sequencing combined with enrichment technologies. *Scientific Reports*, 9(1), 15595.
- Deckers, M., Deforce, D., Fraiture, M. A., & Roosens, N. H. C. (2020). Genetically modified micro-organisms for industrial food enzyme production: An overview. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(3), 326.
- Du, L. (2014). GMOlabelling and the consumer's right to know: A comparative review of the legal bases for the consumer's right to genetically modified good labelling. *McGill Journal of Law and Health*, 8, 1.

- Eum, S. J., Kim, I. R., Lim, H. S., Lee, J. R., & Choi, W. (2019). Event-specific multiplex PCR method for four genetically modified cotton varieties, and its application. *Applied Biological Chemistry*, 62(1), 1–7.
- Feng, J., Tang, S., Liu, L., Kuang, X., Wang, X., Hu, S., & You, S. (2015). Development of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid and specific detection of common genetically modified organisms (GMOs). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(2), 186–196.
- Gampala, S. S., Wulfkuhle, B., & Richey, K. A. (2019). Detection of transgenic proteins by immunoassays. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1864, 411–417.
- Gelvin S. B. (2003). *Agrobacterium*-mediated plant transformation: The biology behind the "gene-jockeying" tool. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(1), 16–37.
- Hallman, W. K., Hebden, W. C., Aquino, H. L., Cuite, C. L., & Lang, J. T. (2003). *Public Perceptions of Genetically Modified Foods: A National Study of American Knowledge and Opinion*. Rutgers University.
- Hardinge, P., Kiddle, G., Tisi, L., & Murray, J. A. H. (2018). Optimised LAMP allows single copy detection of 35Sp and NOST in transgenic maize using Bioluminescent Assay in Real Time (BART). *Scientific Reports*, 8(1), 17590.
- Holden, M. J., Levine, M., Scholdberg, T., Haynes, R. J., & Jenkins, G. R. (2010). The use of 35S and Tnos expression elements in the measurement of genetically engineered plant materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(6), 2175–2187.
- Hougs, L., Gatto, F., Goerlich, O., Grohmann, L., Lieske, K., Mazzara, M., ... & Zel, J. (2019). Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods. In *Testing and Analysis of GMO-containing Foods and Feed* (pp. 245–266). CRC Press.

- Hu, K., Qiu, L., Ding, W., He, H., & Li, Y. (2019). Evaluation of reference genes and expression of key genes involved in the isoprenoid metabolic pathway of rice leaves after infection by the Southern rice black-streaked dwarf virus. *Molecular Biology Reports*, 46(4), 3945–3953.
- Hu, R., Fan, C., Li, H., Zhang, Q., & Fu, Y. F. (2009). Evaluation of putative reference genes for gene expression normalization in soybean by quantitative real-time RT-PCR. *BMC Molecular Biology*, 10, 93.
- Hwang, H. H., Yu, M., & Lai, E. M. (2017). *Agrobacterium*-mediated plant transformation: biology and applications. *The Arabidopsis Book*, 15, e0186.
- Jain, M., Nijhawan, A., Tyagi, A. K., & Khurana, J. P. (2006). Validation of housekeeping genes as internal control for studying gene expression in rice by quantitative real-time PCR. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345(2), 646–651.
- Ji, Y., Tu, P., Wang, K., Gao, F., Yang, W., Zhu, Y., & Li, S. (2014). Defining reference genes for quantitative real-time PCR analysis of anther development in rice. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 46(4), 305–312.
- Kalidasan, V., & Theva Das, K. (2021). Is Malaysia ready for human gene editing: A regulatory, biosafety and biosecurity perspective. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 649203.
- Key, S., Ma, J. K., & Drake, P. M. (2008). Genetically modified plants and human health. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 101(6), 290–298.
- Kikkert, J. R., Vidal, J. R., & Reisch, B. I. (2005). SJadual transformation of plant cells by particle bombardment/biolistics. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 286, 61–78.

- Kropiwnicka, M. (2005). Biotechnology and food security in developing countries: The case for strengthening international environmental regimes. *ISYP Journal on Science and World Affairs*, 1(1), 45–60.
- Laws of Malaysia (2007). *Biosafety Act 2007*. Malaysia: Laws of Malaysia.
- Lee, D., La Mura, M., Allnutt, T. R., & Powell, W. (2009). Detection of genetically modified organisms (GMOs) using isothermal amplification of target *DNA* sequences. *BMC Biotechnology*, 9, 7.
- Lee, T. H., Ho, H. K., & Leung, T. F. (2017). Genetically modified foods and allergy. *Hong Kong Medical Journal*, 23(3), 291–295.
- Leimanis, S., Hernández, M., Fernández, S., Boyer, F., Burns, M., Bruderer, S., Glouden, T., Harris, N., Kaeppli, O., Philipp, P., Pla, M., Puigdomènech, P., Vaitilingom, M., Bertheau, Y., & Remacle, J. (2006). A microarray-based detection system for genetically modified (GM) food ingredients. *Plant Molecular Biology*, 61(1–2), 123–139.
- Li, Q. F., Sun, S. S., Yuan, D. Y., Yu, H. X., Gu, M. H., & Liu, Q. Q. (2010). Validation of candidate reference genes for the accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data in rice during seed development. *Plant Molecular Biology Reporter*, 28, 49–57.
- Lin, Y., Zhang, C., Lan, H., Gao, S., Liu, H., Liu, J., Cao, M., Pan, G., Rong, T., & Zhang, S. (2014). Validation of potential reference genes for qPCR in maize across abiotic stresses, hormone treatments, and tissue types. *PloS One*, 9(5), e95445.
- Liu, W., Meng, L., Liu, X., Liu, C., & Jin, W. (2022). Establishment of an *ELISA* method for quantitative detection of PAT/pat in GM Crops. *Agriculture*, 12(9), 1400.

- Long, X. Y., Wang, J. R., Ouellet, T., Rocheleau, H., Wei, Y. M., Pu, Z. E., ... & Zheng, Y. L. (2010). Genome-wide identification and evaluation of novel internal control genes for Q-PCR based transcript normalization in wheat. *Plant Molecular biology*, 74, 307-311.
- Lv, X., Wu, Y., Gong, M., Deng, J., Gu, Y., Liu, Y., ... & Chen, J. (2021). Synthetic biology for future food: Research progress and future directions. *Future Foods*, 3, 100025.
- Maksup, S., Supaibulwatana, K., & Selvaraj, G. (2013). High-quality reference genes for quantifying the transcriptional responses of *Oryza sativa* L.(ssp. indica and japonica) to abiotic stress conditions. *Chinese Science Bulletin*, 58, 1919-1930.
- Narushima, J., Kimata, S., Soga, K., Sugano, Y., Kishine, M., Takabatake, R., ... & Nakamura, K. (2020). Rapid DNA template preparation directly from a rice sample without purification for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of rice genes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 84(4), 670–677.
- Nodin, M. N., Mustafa, Z., & Hussain, S. I. (2022a). Assessing rice production efficiency for food security policy planning in Malaysia: A non-parametric bootstrap data envelopment analysis approach. *Food Policy*, 107, 102208.
- Nodin, M. N., Mustafa, Z., & Hussain, S. I. (2022b). Eco-efficiency assessment of Malaysian rice self-sufficiency approach. *Socio-Economic Planning Sciences*, 101436.
- Noor, M. N. M., Aziz, M. R. A., & Sabri, H. (2022). Overcoming food securities issue in Malaysia.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), E63.
- Oliver M. J. (2014). Why we need GMO crops in agriculture. *Missouri Medicine*, 111(6), 492–507.

- Parisi, C., Tillie, P., & Rodríguez-Cerezo, E. (2016). The global pipeline of GM crops out to 2020. *Nature Biotechnology*, 34(1), 31–36.
- Rajan, S. R., & Letourneau, D. K. (2012). What risk assessments of genetically modified organisms can learn from institutional analyses of public health risks. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2012, 203093.
- Randhawa, G., Singh, M., & Sood, P. (2016). DNA-based methods for detection of genetically modified events in food and supply chain. *Current Science*, 1000–1009.
- Rogers, C. S. (2016). Genetically engineered livestock for biomedical models. *Transgenic Research*, 25(3), 345–359.
- Safaei, P., Aghaee, E. M., Khaniki, G. J., Afshari, S. A. K., & Rezaie, S. (2019). A simple and accurate PCR method for detection of genetically modified rice. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 17(2), 847–851.
- Saltykova, A., Van Braekel, J., Papazova, N., Fraiture, M. A., Deforce, D., Vanneste, K., ... & Roosens, N. H. (2022). Detection and identification of authorised and unauthorised GMOs using high-throughput sequencing with the support of a sequence-based GMO database. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 4, 100096.
- Saraiva, K. D., Fernandes de Melo, D., Morais, V. D., Vasconcelos, I. M., & Costa, J. H. (2014). Selection of soybean EF1 α genes as internal controls for real-time PCR analyses of tissues during plant development and under stress conditions. *Plant Cell Reports*, 33(9), 1453–1465.
- Seid, A., & Andualem, B. (2021). The role of green biotechnology through genetic engineering for climate change mitigation and adaptation, and for food security: Current challenges and future perspectives. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 1, 11.

- Sendashonga, C., Hill, R., & Petrini, A. (2005). The Cartagena Protocol on Biosafety: interaction between the Convention on Biological Diversity and the World Organisation for Animal Health. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 24(1), 19–30.
- Singh, J. K. D., Jalaluddin, N. S. M., Sanan-Mishra, N., & Harikrishna, J. A. (2020). Challenges to the adoption of modern crop biotechnology: Insights from Indian and Malaysian gm regulatory frameworks. *Malaysian Applied Biology*, 49(5), 1–9.
- Singh, M., Pal, D., Sood, P., & Randhawa, G. (2019). Loop-mediated isothermal amplification assays: Rapid and efficient diagnostics for genetically modified crops. *Food Control*, 106, 106759.
- Smyth, S. J. (2020). The human health benefits from GM crops. *Plant Biotechnology Journal*, 18(4), 887.
- Sowmya, N., Thakur, M. S., & Manonmani, H. K. (2012). Rapid and simple DNA extraction method for the detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* directly from food samples: comparison of PCR and LAMP methods. *Journal of Applied Microbiology*, 113(1), 106–113.
- Takabatake, R., Kagiya, Y., Minegishi, Y., Yeasmin, S., Futo, S., Noguchi, A., ... & Kitta, K. (2018). Development and evaluation of rapid screening detection methods for genetically modified crops using loop-mediated isothermal amplification. *Food Chemistry*, 252, 390–396.
- Tyczewska, A., Twardowski, T., & Woźniak-Gientka, E. (2023). Agricultural biotechnology for sustainable food security. *Trends in Biotechnology*, 41(3), 331–341.
- Van Acker, R., Rahman, M. M., & Cici, S. Z. H. (2017). Pros and cons of GMO crop farming. In *Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science*.

- Van Esse, H. P., Reuber, T. L., & van der Does, D. (2020). Genetic modification to improve disease resistance in crops. *New Phytologist*, 225(1), 70–86.
- Wang, Y. H., Wei, K. Y., & Smolke, C. D. (2013). Synthetic biology: advancing the design of diverse genetic systems. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 4, 69–102.
- Wong, Y. P., Othman, S., Lau, Y. L., Radu, S., & Chee, H. Y. (2018). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A versatile technique for detection of micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 124(3), 626–643.
- World Health Organization (WHO). (2014). Food, genetically modified. In: *WHO Questions and Answers (Q&A)*. Cited 25 February 2023. <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/food-genetically-modified>
- Xu, J., Zheng, Q., Yu, L., Liu, R., Zhao, X., Wang, G., ... & Cao, J. (2013). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for detection of genetically modified maize T25. *Food Science & Nutrition*, 1(6), 432–438.
- Zhang, H., Li, J., Zhao, S., Yan, X., Si, N., Gao, H., ... & Wu, Y. (2021). An editing-site-specific PCR method for detection and quantification of CAO1-edited rice. *Foods*, 10(6), 1209.
- Zhou, Y., & Han, Y. (2022). Engineered bacteria as drug delivery vehicles: Principles and prospects. *Engineering Microbiology*, 2(3), 100034.
- Zilberman, D., Holland, T. G., & Trilnick, I. (2018). Agricultural GMOs—What we know and where scientists disagree. *Sustainability*, 10(5), 1514.

APPENDIKS

Appendiks 1 Jadual

Bil.	Perkara	Process tandatangan MOA	Bulan ke: 1	Bulan ke: 2	Bulan ke: 3	Bulan ke: 4	Bulan ke: 5	Bulan ke: 6	Bulan ke: 7	Bulan ke: 8	Bulan ke: 9	Bulan ke: 10	Bulan ke: 11	Bulan ke: 12	Bulan ke: 13
1.	Penyelarasan kerjasama/ MOA														
2.	Penyerahan laporan insepisi (konsep/ cadangan/ pelan) secara terperinci selepas menandatangani kontrak				RM 37,500										
3.	Meyediakan ulasan terperinci hasil tinjauan pustaka dan analisis jurang														
4.	Menjalankan penyelidikan di makmal dan pengumpulan data														
5.	Pembangunan ujian (Loop Mediated Isothermal Amplification – <i>LAMP</i>) kuantitatif (<i>rapid test kit</i>)														
6.	Menyediakan laporan interim mengenai analisis data awalan									RM 60,000					
7.	Penentuan kekhususan serta kepekaan ujian <i>LAMP</i>														
8.	Menghasilkan draft dokumen laporan hasil kajian												RM 37,500		
9.	Melaksanakan pembentangan dan menyerahkan dokumen akhir laporan hasil kajian														RM 15,000

Appendiks 2 Penyerahan

Jadual: Jadual Penyerahan

Fasa	Penghantaran	Masa
1	• Laporan Permulaan • Pembaikan pengestrakan asid nukleik	3-4 bulan
2	• Pembangunan ujian <i>LAMP</i>	8 bulan
3	• Menentukan sensitiviti dan spesifikiti ujian <i>LAMP</i> yang dibangunkan	9-10 bulan
4	• Laporan Akhir	10 bulan
5	• Laporan Kemajuan	2 bulan sekali sepanjang projek

Appendix 3 Bajet

Kategori Perbelanjaan	Butiran	Kos
<i>Kos gaji dan upah</i>	<i>1 RA</i>	24,000
<i>Kos bahan penyelidikan dan bekalan</i>	<i>General consumables</i>	15,000
	<i>General reagents</i>	16,500
	<i>Chelax-100</i>	7,500
	<i>Absolute Ethanol</i>	3,000
	<i>Liquid Nitrogen</i>	3,000
	<i>Sodium Chloride</i>	1,000
	<i>Isopropanol</i>	2,000
	<i>Consumables for LAMP</i>	10,000
	<i>Bst DNA Polymerase Kit</i>	10,000
	<i>Sybr Green I</i>	10,000
	<i>Consumables for PCR</i>	10,000
	<i>Taq DNA polymerase</i>	5,000
	<i>Sequencing</i>	5,000
	<i>Agarose</i>	2,000
	<i>TE Buffer</i>	5,000
	<i>DNA staining solution</i>	5,000
	<i>DNase free water</i>	1,000
	<i>Primers</i>	6,000
<i>Kos penyelenggaraan dan pembaikan minor</i>	<i>Pipettes</i>	2,000
	<i>PCR Thermal cycler</i>	2,500
	<i>-80°C freezer</i>	2,500
	<i>Gel Doc</i>	2,000
<i>Keseluruhan kos</i>		150,000

Butiran Peruntukan:

Vot	Peruntukan (RM)
11000 (Gaji dan upah)	24,000
27000 (Bahan penyelidikan dan bekalan)	117,000
28000 (Penyelenggaraan dan pembaikan minor)	9,000
Jumlah (RM)	150,000

Appendix 4 Senarai Sampel

NO. RUJUKAN JBK	NO. RUJUKAN AGENSI	LOKASI	JENIS SAMPEL	KETERANGAN SAMPEL
JBK/B/10/22 (161)	B18109035092	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	PAKISTANI LONG GRAIN WHITE RICE
JBK/B/10/22 (160)	B18109034213	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	THAI WHITE RICE
JBK/B/10/22 (159)	B18109020769	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	THAI RED RICE
JBK/B/10/22 (158)	B18109033548	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	PAKISTANI LONG GRAIN WHITE RICE
JBK/B/10/22 (157)	B18109024258	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	PAKISTANI LONG GRAIN WHITE RICE
JBK/B/10/22 (156)	B1810903224	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	LONG GRAIN SELA RICE
JBK/B/10/22 (155)	B18109020787	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	VIETNAMESE BROWN JASMINE RICE
JBK/B/10/22 (154)	B18109033854	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	THAI WHITE RICE

Rajah S1. Senarai sampel yang diterima daripada Jabatan Biokeselamatan Malaysia (Batch 1). Sampel yang disediakan oleh Jabatan Biokeselamatan Malaysia telah diterima pada 16 November 2022. * menandakan sampel tersebut tidak berlabel atau tidak tersedia.

NO. RUJUKAN JBK	NO. RUJUKAN AGENSI	LOKASI	JENIS SAMPEL	KETERANGAN SAMPEL
JBK/B/10/22 (153)	B18109041479	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	THAI HOM MALI RICE
JBK/B/10/22 (152)	B18109031494	MAQIS PELABUHAN KLANG BARAT	BERAS	VIETNAMESE JAPONICA WHITE RICE
* JBK/B/07/22 (89)	P18105003070 (B10/DAD/33/22)	MAQIS PELABUHAN DERMAGA AIR DALAM	JAGUNG	SWEET CORN SEED
* JBK/B/06/22 (85)	P88105000021	MAQIS PELABUHAN DERMAGA AIR DALAM	JAGUNG	ARGENTINE CORN
* JBK/B/08/22 (101)	P88107000004	MAQIS PELABUHAN DERMAGA AIR DALAM	KACANG SOYA	ARGENTINE HIPRO SOYBEAN
* JBK/B/09/22 (107)	P88108000005	MAQIS PELABUHAN DERMAGA AIR DALAM	KACANG SOYA	HIPRO SOYBEAN MEAL

Rajah S1. Sambungan...

NO. RUJUKAN JBK	NO. RUJUKAN AGENSI	LOKASI	JENIS SAMPEL	KETERANGAN SAMPEL
* JBK/B/10/22 (121)	A1E109000003	MAQIS PELABUHAN LUMUT	GANDUM	GANDUM
JBK/B/10/22 (128)	A1E109000004	MAQIS PELABUHAN LUMUT	GANDUM	RED SPRING WHEAT
* JBK/B/07/22 (88)	M5711202206A040960	MAQIS PELABUHAN LABUAN	GANDUM	AUSTRALIAN STANDARD WHEAT
* JBK/B/07/22 (87)	M5711202206A040955	MAQIS PELABUHAN LABUAN	GANDUM	AUSTRALIAN HARD WHEAT

Rajah S1. Sambungan...

UM Penghantaran Sampel 31/1/2023			
NO RUJUKAN JBK	NO RUJUKAN AGENSI	JENIS SAMPEL	KETERANGAN SAMPEL
JBK/B/11/22 (164)	P1410007593	JAGUNG	INDIAN YELLOW CORN
JBK/B/11/22 (165)	P1410002557	KACANG SOYA	YLI LOW SOYBEAN
JBK/B/11/22 (166)	P1410002451	JAGUNG	PAKISTAN YELLOW MAIZE
JBK/B/12/22 (179)	P1411000006	KACANG SOYA	SOYA BEANS
JBK/B/12/22 (180)	P1411001435	JAGUNG	YELLOW MAIZE
JBK/B/12/22 (181)	P1411005205	JAGUNG	YELLOW CORN
JBK/B/12/22 (183)	P1411009077	JAGUNG	YELLOW MAIZE
JBK/B/12/22 (184)	P1411008575	JAGUNG	YELLOW MAIZE
JBK/B/12/22 (185)	P1411008456	JAGUNG	YELLOW CORN MAIZE
JBK/B/12/22 (186)	P1411009278	JAGUNG	MAIZE

Rajah S2. Senarai sampel yang diterima daripada Jabatan Biokeselamatan Malaysia (Batch 2). Sampel yang disediakan oleh Jabatan Biokeselamatan Malaysia telah diterima pada 31 Januari 2023.

Appendiks 5 Minit Mesyuarat

Jadual S1. Minit Mesyuarat 1.

Minit Mesyuarat 1

Tarikh: 7-11-2022 (Isnin)

Masa: 11:30 – 1:00 pm

Lokasi: The Cube, Tingkat 4, Kompleks Pengurusan & Inovasi Penyelidikan, Universiti Malaya.

Kehadiran:

Semua ahli projek.

Agenda:

Masa	Perbincangan	Wakil
11:30 am – 11:40 am	Ucapan pengenalan oleh ketua projek	Prof. Dr. Saiful Anuar Bin Karsani
11:40 am – 1:00 pm	Perbincangan 1. Pelantikan pembantu penyelidik 2. Persediaan eksperimen (a) Pangkalan data jujukan/ repositori jujukan (b) Senarai primer peristiwa <i>LMO</i> utama 3. Kajian rintis cth., Jagung atau Kacang Soya 4. Maklumat yang diperlukan untuk eksperimen (a) Dapatkan maklumat tentang makanan ruji yang telah diimport ke Malaysia (Mygmo.kimia) (b) Dapatkan senarai peristiwa yang telah diluluskan oleh KASA (untuk beras, jagung, gandum)	
1:00 pm	Mesyuarat tamat	Semua

Jadual S2. Minit Mesyuarat 2.

Minit Mesyuarat 2

Tarikh: 20-12-2022 (Selasa)

Masa: 10:30 – 11:30 am

Lokasi: Bilik mesyuarat, Tingkat 2, Jabatan Kimia Malaysia, Jalan Sultan, Pjs 52, 46661 Petaling Jaya, Selangor

Kehadiran:

7 wakil daripada Universiti Malaya (Prof. Dr. Jennifer Ann Harikrishna, Dr. Gopinath, Dr. Kumutha, Dr. Yvonne, Madam Nor Hidayah Ismail, Madam Haryana Rozana Abdul Rahim and Ms. Wong Kar Cheng) DAN

6 wakil daripada Jabatan Kimia Malaysia (En. Harun bin Ahmad (Director of the Biotechnology Division, Drinking Water, Food And Environmental Safety Analysis Centre), Madam Suraini, Madam Shafriza, Dr. Shariza, Dr. Nur Akmar, Ms. Dharshini)

Agenda:

Masa	Perbincangan	Wakil
10:30 am – 10:35 am	Taklimat keselamatan dan SOP (filem OSH)	Jabatan Kimia Malaysia
10:35 am – 10:40 am	Ucapan pengenalan pengarah	En. Harun bin Ahmad
10:40 am – 10:42 am	Pengenalan ringkas UM dan Jabatan Kimia Malaysia	Semua
10:42 am – 10:50 am	pembentangan slaid oleh Prof. Dr. Jennifer Ann Harikrishna Skop: - Tajuk - Pengenalan - Matlamat - Metodologi - Masaline - Penemuan yang dijangkakan - Bahan yang diperlukan untuk reka bentuk eksperimen	Prof. Dr. Jennifer Ann Harikrishna

10:50 am – 11:20 am	Perbincangan projek dan bahan yang diperlukan Dr. Shariza 1. Kefahaman mengenai reka bentuk primer <i>LAMP</i> (Dijawab oleh Prof. Dr. Jennifer: Keterlibatan dalam kepakaran ujian <i>LAMP</i>, Prof. Lau Yee Ling) 2. Kemajuan semasa dalam pembangunan protokol ujian <i>LAMP</i> (Dijawab oleh Prof. Dr. Jennifer: Reka bentuk primer menghalang proses pembangunan) 3. Jenis kaedah pengekstrakan <i>DNA</i> yang dijangka digunakan (Dijawab oleh Dr. Kumutha: Kaedah yang cepat dan dijalankan di tempat) 4. Jenis instrumen untuk ujian <i>LAMP</i> (Dijawab oleh Dr. Kumutha: blok pemanasan atau mesin mini-PCR jenis porJadual) 5. Ujian yang dibangunkan berasaskan kit (Dijawab oleh Dr. Kumutha: Sebuah kit yang terdiri daripada bahan dan instrumen yang diperlukan) 6. Kajian literatur mengenai pelbagai ujian <i>LAMP</i> yang digunakan oleh negara lain untuk ujian <i>GMO/LMO</i>, seperti Jepun dan lain-lain (Dijawab oleh Prof. Dr. Jennifer dan Dr. Kumutha: Kajian literatur telah disiapkan dengan teliti untuk memahami kit atau kaedah yang tersedia secara komersial pada masa ini, serta publikasi yang melaporkan penemuan-penemuan tersebut) 7. Kos dan arah penentuan ujian yang dibangunkan (Dijawab oleh Prof. Dr. Jennifer: perlukan klarifikasi daripada Jabatan BioKeselamatan untuk membenarkan keperluan dan kebimbangan mengenai varian	Semua
------------------------	--	-------

	GMO/LMO serta urutan sasaran (jika ada)) 8. Cadangan untuk Thermo Cyclers UPM Biotech yang lebih mudah dan mengawal pelbagai suhu bagi tindak balas; kira-kira 20k 9. Cadangan pelbagai pilihan ujian (Dijawab oleh Dr. Kumutha: yang memenuhi bajet dan kos yang ditetapkan untuk setiap ujian) 10. Pencarian jujukan/acara GMO yang terdapat di laman web Jabatan BioKeselamatan/Kimia (malangnya semua laman web dalam keadaan <i>down</i>) 11. Memastikan urutan/acara sasaran (yang sangat berkenaan atau tumpuan oleh Jabatan BioKeselamatan) 12. Sampel positif dan negatif adalah mahal dan proses permohonan agak rumit (memerlukan kelulusan daripada Jabatan BioKeselamatan) Dr. Nur Akmar 1. Jenis kaedah pengekstrakan DNA (Dijawab oleh Dr. Kumutha: Protokol yang dibangunkan di dalam jabatan yang memerlukan langkah-langkah minima dan penggunaan peralatan) Dr. Sharifa 1. Cadangan ujian pada beras, jagung, dan gandum (Dijawab oleh Dr. Gopinath: Diminta oleh Jabatan BioKeselamatan) En. Harun bin Ahmad (Pengarah) 1. Sampel positif memerlukan kebenaran dari badan kawal selia, Jabatan BioKeselamatan.	
--	--	--

	2. Membina kerjasama antara Jabatan BioKeselamatan dan Jabatan Kimia untuk saling memahami. 3. Menyediakan mesyuarat dengan ketiga-tiga pihak yang terlibat (UM, Jabatan BioKeselamatan, dan Jabatan Kimia) untuk menunjukkan arah projek dan pertukaran bahan. 4. Jumlah bahan sijil (sampel positif) (Dijawab oleh Prof. Dr. Jennifer: Pilihan alternatif adalah menambah bahan piawai dalaman untuk menggantikan sampel positif) Madam Nor Hidayah Ismail 1. Cadangan mesyuarat dengan ketiga-tiga pihak yang terlibat (UM, Jabatan BioKeselamatan, dan Jabatan Kimia). Dr. Kumutha 1. PCR/Kit yang telah dibangunkan untuk ujian GMO/LMO di dalam jabatan (Dijawab oleh Dr. Shariza: Ya, terdapat). 2. Reka bentuk primer komersial dan dalaman (Dijawab oleh Dr. Shariza: Ya, kedua-duanya sedang digunakan). 3. Primer sedia ada untuk pelbagai acara GMO (Dijawab oleh Dr. Shariza: Ya, terdapat). 4. Cadangan pengesanan acara individu dalam ujian <i>LAMP</i> pada awal kajian.	
11:20 am – 11:25 am	Minum petang	Semua
11:20 am – 11:25 am	Ucapan terakhir oleh pengarah	En. Harun bin Ahmad
11:25 am – 11:30 am	Mesyuarat tamat	Semua

Jadual S3. Minit Mesyuarat 3.

Minit Mesyuarat 3

Tarikh: 03-01-2023 (Selasa)

Masa: 2:30 – 3:30 pm

Lokasi: Google Meet

Kehadiran:

9 wakil daripada Universiti Malaya (Prof. Dr. Saiful Anuar Bin Karsani, Prof. Dr. Jennifer Ann Harikrishna, Associate Prof. Dr. Puteri Shafinaz Akmar Binti Abdul Rahman, Dr. Gopinath Venkatraman, Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy, Dr. Yvonne, Mdm. Nor Hidayah Ismail, Mdm. Haryana Rozana Abdul Rahim, dan Ms. Wong Kar Cheng) DAN

4 wakil daripada Department of Biosafety Malaysia (Dr. Norwati Binti ADNAN, Mdm. Rozila Binti Zulkifly, Mr. Mohd Amiru Hariz Bin Aminuddin, dan Mdm. Nurfaeza Binti Lokman)

Agenda:

Masa	Perbincangan	Wakil
2:30 pm – 2:35 pm	Pengenalan ringkas projek dan agenda mesyuarat ini - Matlamat - Metodologi - Bahan yang diperlukan untuk reka bentuk eksperimen (memerlukan kebenaran daripada Jabatan Biokeselamatan Malaysia) - Kemas kini lawatan terakhir ke Jabatan Kimia Malaysia (Disember 2022)	Prof. Dr. Saiful Anuar Bin Karsani
2:35 pm – 3:05 pm	Perbincangan mengenai projek dan bahan yang diperlukan. Mdm. Nurfaeza Binti Lokman: 1. Apa jenis bahan yang diperlukan dari Jabatan Kimia Malaysia? Dijawab oleh Prof. Dr. Saiful: Primer, jujukan, dan sampel kawalan untuk projek ini. 2. Penyerahan laporan permulaan berdasarkan carta Gantt projek. Dijawab	Semua

	oleh Prof. Dr. Saiful: Kemajuan terhad pada projek ini kerana pembiayaan yang diperuntukkan hanya diterima pada bulan lepas (Disember 2022). Dr. Norwati Binti ADNAn: 1. Mengenai senarai jujukan acara GMO, akan memakan masa untuk pembangunan kaedah jika ia merangkumi semua acara GMO tertentu. Dr. menasihati untuk hanya mengkaji acara GMO yang belum diluluskan oleh pihak berkuasa. 2. Adakah mencukupi untuk menyediakan hanya jujukan, misalnya, promotor dan terminator, untuk reka bentuk primer? Dijawab oleh Prof. Dr. Jennifer: Untuk reka bentuk primer, seluruh jujukan gen diperlukan (jika memungkinkan). Sebagai alternatif, kami masih boleh mencuba untuk merancang primer berdasarkan jujukan promotor/terminator yang disediakan. Walau bagaimanapun, kami perlu mendapatkan pengesahan dan perundingan daripada pakar <i>LAMP</i>, Prof. Dr. Lau Yee Ling, mengenai reka bentuk primer <i>LAMP</i>. 3. Berikan <i>sequence</i> gen GMO yang dimasukkan dan menasihati untuk mencari jujukan penuh daripada bank gen atau makmal biosekuriti (jika ada). 4. Adakah hanya satu atau dua acara GMO, atau banyak acara yang termasuk dalam projek pembangunan <i>LAMP</i> ini? Dijawab oleh Prof. Dr. Saiful: Ini bergantung pada kemajuan projek, serta kepekaan dan spesifisiti ujian <i>LAMP</i> yang dibangunkan semasa fasa pengesahan. 5. Adakah Jabatan BioKeselamatan Malaysia menghantar sampel negatif kepada UM? Dijawab oleh Mdm Nurfaeza: Hanya yang diperolehi dari pasaran makanan.	
--	--	--

	6. Prosedur pengesanan (PCR) tidak tersedia di Jabatan BioKeselamatan Malaysia. Prof. Dr. Saiful Anuar Bin Karsani: 1. Primer untuk pengesanan PCR. Dijawab oleh Dr. Norwati: Primer PCR direka untuk acara GMO tertentu. 2. Untuk merangkum, kami boleh mendapatkan semua maklumat yang diperlukan yang terdapat di Jabatan BioKeselamatan Malaysia, tetapi kami masih perlu menyelidik maklumat yang diperlukan yang terdapat di Jabatan Kimia Malaysia. Associate Prof. Dr. Puteri Shafinaz Akmar Binti Abdul Rahman: 1. Meminta semua jujukan/acara GMO yang tersedia yang akan berguna untuk reka bentuk primer dalam projek ini. Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy: 1. Jabatan Kimia Malaysia tidak memerlukan ujian yang merangkumi keseluruhan spektrum acara GMO, tetapi hanya SCREENING untuk kehadiran acara GMO (misalnya, melalui kehadiran promotor dan terminator biasa). 2. Tidak dapat mengakses semua laman web Kementerian/Jabatan untuk jujukan/gen yang diperlukan (laman web down). Dr. Gopinath Venkatraman: 1. Sampel yang tidak diberi label diterima daripada Jabatan BioKeselamatan Malaysia.	
3:05 pm	Mesyuarat tamat	Semua

Jadual S4. Minit Mesyuarat 4.

Minit Mesyuarat 4

Tarikh: 13-01-2023 (Jumaat)

Masa: 3:15 – 4:30 pm

Lokasi: Bilik Persidangan, Jabatan Mikrobiologi Perubatan, Fakulti Perubatan, Universiti Malaya

Kehadiran:

4 wakil daripada Universiti Malaya (Prof. Dr. Jennifer Ann Harikrishna, Prof. Dr Lau Yee Ling, Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy dan Ms. Wong Kar Cheng)

Agenda:

Masa	Perbincangan	Wakil
3:15 pm – 3:30 pm	Pengenalan ringkas dan pembentangan slaid oleh Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy dan Cik Wong Kar Cheng Skop: - Pengenalan - Matlamat - Metodologi - Bahan yang diperlukan untuk reka bentuk eksperimen	Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy dan Cik Wong Kar Cheng
3:30 pm – 4:30 pm	Perbincangan Terbuka <u>Matlamat Projek</u> 1. Sasaran acara <i>LMO</i> yang spesifik (gen) Cadangan oleh Prof. Jennifer (a) Acara beras <i>LMO</i> yang spesifik yang dilaporkan (contohnya, Golden Rice Filipina) Tindakan: Prof. Jennifer mencadangkan untuk meminta beberapa sampel Golden Rice dari Institut Penyelidikan Padi Antarabangsa (IRRI) untuk tujuan penyekuensan. Kajian literatur mengenai acara yang dilaporkan ini akan dijalankan untuk mengumpulkan maklumat yang diperlukan.	Semua

	(b) Menyekuenkan sampel <i>LMO</i> yang ada (jika ada) yang disediakan oleh pihak berkuasa untuk menumpukan gen <i>LMO</i> yang biasa terdapat dalam sampel. Pro: Kebolehan mengenal pasti acara <i>LMO</i> yang dipilih, Kajian berdasarkan penemuan. Kontra: Liputan yang terhad (dalam penggunaan) dan mungkin tidak sesuai sebagai alat skrin umum. 2. Menumpukan elemen-elemen <i>LMO</i> yang biasa (contohnya, promotor dan terminator) Cadangan oleh Prof. Lau dan Dr. Kumutha (a) Senarai elemen-elemen <i>LMO</i> yang biasa <i>Promoters</i> i. <i>Cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter (P-35S) ~700 bp</i> ii. <i>Nopaline synthase promoter (P-nos) from Agrobacterium tumefaciens</i> iii. <i>Figwort Mosaic Virus 35S promoter (P-FMV) ~1.1 kb</i> iv. <i>Rice actin promoter (P-ract) ~0.93kb</i> <i>Terminator</i> v. <i>Nopaline synthase terminator (T-nos) from Agrobacterium tumefaciens ~127 bp</i> Pro: Boleh berfungsi sebagai alat skrin, jujukan terdapat dalam pangkalan data, mungkin sesuai dengan kaedah PCR yang telah dibangunkan oleh Jabatan Kimia Malaysia. Kontra: Tidak spesifik kepada acara, pengesanan positif palsu (kerana sesetengah promotor/terminator secara semulajadi terdapat dalam organisma (contohnya, tumbuhan)). Tindakan: Sementara itu, elemen i, iv, dan v dipilih untuk pembangunan ujian <i>LAMP</i>.	
--	---	--

	<u>Bahan rujukan</u> 1. Sampel Positif <i>LMO</i> dan Sampel Negatif <i>LMO</i>. Permintaan untuk bahan-bahan yang bertaualiah adalah penting untuk pengesanan pembangunan ujian. 2. Bahan Rujukan Dalaman Dicapangkan oleh Prof. Jennifer dan Prof. Lau (a) Vektor yang mengandungi elemen-elemen sasaran Contohnya, vektor ekspresi tumbuhan pCambia1304 yang mengandungi P-35S dan T-nos. Tindakan: Vektor ekspresi pCambia1304 (dalam <i>E. coli</i>) akan disediakan oleh makmal Prof. Jennifer. (b) Klon, perkembangbiakan, dan isolasi jujukan yang diminati melalui pendekatan pemindahan molekul. (pilihan) <u>Pembangunan Ujian LAMP</u> <i>Dicapangkan oleh Prof. Lau</i> 1. Reka bentuk Primer <i>LAMP</i> Tindakan: Bahagian perundingan akan dijadualkan dengan Prof. Lau untuk reka bentuk primer <i>LAMP</i> ke atas 3 elemen <i>LMO</i> yang ditumpukan. 2. Loopamp Real-Masa Turbidimeter LA 500 (Eiken, Taiko-ku, Jepun) Penting dalam menentukan intensiti warna pewarna produk gen yang telah digandakan. (a). Ketersediaan Peralatan (b). Kaedah atau peralatan pengesanan yang boleh dibandingkan Berdasarkan pengukuran pembentukan zarah. Tindakan: Cari peralatan yang boleh dibandingkan. (c). Pewarna fluoresen SYTO 9 Memantau ujian <i>LAMP</i> masa-nyata berdasarkan intensiti fluoresen Tindakan: Mohon sebut harga untuk pewarna ini.	
4:30 pm	Mesyuarat tamat	Semua

Jadual S5. Minit Mesyuarat 5

Minit Mesyuarat 5

Tarikh: 23-2-2023 (Khamis)

Masa: 4:00 – 5:00 pm

Lokasi: Jabatan Parasitologi, Fakulti Perubatan, Universiti Malaya

Kehadiran:

4 wakil daripada Universiti Malaya (Prof. Dr Lau Yee Ling, Dr. Gopinath Venkatraman, Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy dan Ms. Wong Kar Cheng)

Agenda:

Masa	Perbincangan	Wakil
4:00 pm	Pengenalan ujian <i>LAMP</i>	Prof. Dr Lau Yee Ling
4:15 pm	Tutorial reka bentuk primer <i>LAMP</i> • Pengenalan perisian yang terlibat dalam reka bentuk primer <i>LAMP</i> (cth., ClustalW dan PrimerExplorer V5 software) • Penentuan kawasan pemuliharaan gen yang disasarkan • Keperluan primer <i>LAMP</i>	Prof. Dr Lau Yee Ling
4:45 pm	Perbincangan dan QnA	Semua
5:00 pm	Meeting tamat	Semua

Jadual S6. Minit Mesyuarat 6

Minit Mesyuarat 6

Tarikh: 22-3-2023 (Rabu)

Masa: 10:00 – 11:00 am

Lokasi: Jabatan Parasitologi, Fakulti Perubatan, Universiti Malaya

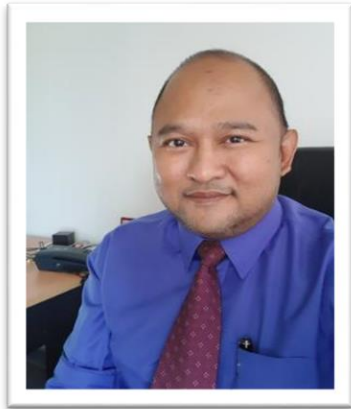
Kehadiran:

4 wakil daripada Universiti Malaya (Prof. Dr Lau Yee Ling, Dr. Gopinath Venkatraman, Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy dan Cik Wong Kar Cheng)

Agenda:

Masa	Perbincangan	Wakil
10:00 am	Pembentangan calon primer <i>LAMP</i>	Cik Wong Kar Cheng
10:15 am	Perbincangan • Penilaian kawasan terpelihara terpilih bagi gen yang disasarkan • Semak calon primer <i>LAMP</i> yang dicadangkan • Penentuan primer gelung <i>LAMP</i>	Semua
11:00 am	Mesyuarat tamat	Semua

Appendiks 6 Pengenalan Penyelidik-penyelidik



Profesor Dr. Saiful Anuar Bin Karsani

Profesor

Institute of Biological Sciences

Faculty of Science, Universiti Malaya

Emel: saiful72@um.edu.my

Tel: +60379677139

Bersemangat dan fokus; dilahirkan dengan semangat akademik, dan jiwa seorang penjelajah; Profesor Dr. Saiful telah menerima PhD dalam Parasitologi Molekuler dari Imperial College, London pada tahun 2006, selepas itu, beliau segera menyertai Universiti Malaya sebagai pensyarah. Kini, beliau adalah seorang profesor Biochemistry di Fakulti Sains. Lebih daripada 12 PhD dan 15 pelajar Sarjana telah menamatkan pengajian di bawah bimbingan beliau. Dengan lebih daripada 70 penerbitan (WOS) dan indeks h sebanyak 18, Profesor Dr. Saiful adalah seorang pakar yang diiktiraf dalam bidang proteomik dan mempunyai kerjasama pelbagai dengan penyelidik dari serata dunia. Beliau telah menerima lebih daripada RM 5 juta dalam geran penyelidikan. Profesor Dr. Saiful juga memegang pelbagai tanggungjawab pengurusan. Di antaranya adalah peranan beliau sebagai Timbalan Dekan (2015-2017) dan Dekan (2017-kini) dalam Kumpulan Penyelidikan Frontiers of the Natural World (sebelum ini dikenali sebagai Frontier Science Research Cluster), dan pada masa ini sebagai Pengarah IPPP. Dalam peranan ini, tanggungjawabnya termasuk memastikan pertumbuhan dan pembangunan penyelidikan dalam UM, menguruskan geran penyelidikan dalaman, melatih penyelidik untuk memperkukuhkan mereka, membangunkan bidang-bidang kepakaran dan tumpuan UM, melibatkan pihak berkepentingan, dan pelbagai tugas lain yang berkaitan dengan penyelidikan dan inovasi.



Dr. Gopinath Venkatraman

Pensyarah

Frontiers of The Natural World Cluster

Universiti Malaya

Emel: gopinath87@um.edu.my

Dr. Gopinath ialah Pensyarah Kanan di Pusat Penyelidikan Proteomik Universiti Malaya, Kumpulan Frontiers in Natural World, Universiti Malaya, Malaysia. Selepas menamatkan PhD dalam Bidang Bioteknologi di Universiti SRM, India pada tahun 2014, beliau memulakan kerjaya akademiknya sebagai *postdoctoral research fellow* di Universiti Malaya, Jabatan Mikrobiologi Perubatan (tujuh tahun). Pada tahun 2022, Dr. Gopinath menyertai UMCPR sebagai Pensyarah Kanan. Dr. Gopinath juga memegang pelantikan semasa sebagai Pensyarah Adjunct di Institut Sains Perubatan & Teknikal Saveetha, Jabatan Biokimia, India. Fokus penyelidikan semasanya adalah dalam bidang biomaterial, kejuruteraan tisu, antimikrob dan Proteomik. Sehingga kini, Dr. Gopinath mempunyai lebih daripada 30 penerbitan (WOS) dalam pelbagai jurnal ternama dengan indeks kutipan keseluruhan sebanyak 1849 dan indeks h sebanyak 19.



Dr. Kumutha Malar A/P Vellasamy

Pensyarah

Department of Medical Microbiology

Faculty of Medicine, Universiti Malaya

Emel: kumuthamalar@um.edu.my

Dr. Kumutha Malar Vellasamy memperoleh Ijazah Sarjana Muda Sains (Kepujian) dalam Mikrobiologi dari Fakulti Sains, Universiti Malaya (UM), selepas itu beliau menyertai Jabatan Mikrobiologi Perubatan, Fakulti Perubatan, UM sebagai penolong penyelidik. Kemudian, beliau menerima *National Science Fellowship (NSF)* dari Kementerian Sains, Teknologi, dan Inovasi (MOSTI), Malaysia untuk mengejar Ijazah Sarjana di Universiti Sains Malaysia (USM) di mana beliau memperoleh MSc dengan bidang tumpuan dalam Mikrobiologi Alam Sekitar. Selepas itu, beliau kembali menyertai Jabatan Mikrobiologi Perubatan, UM sebagai penolong penyelidik sebelum meneruskan pengajian PhD dengan biasiswa University of Malaya Fellowship, dan lulus dengan Keutamaan pada tahun 2013. Semasa pengajian PhD, Dr. Kumutha memenangi beberapa anugerah termasuk Anugerah Saintis Muda Merck (lima finalis terbaik dan pemenang anugerah konsolasi) dan Anugerah Wellcome Trust untuk Penyelidik Muda. Setelah mendapat PhD, beliau terus bekerja sebagai Fellow Penyelidik Pasca-doktor sebelum menyertai Jabatan Mikrobiologi Perubatan, Fakulti Perubatan, UM sebagai Pensyarah Kanan pada tahun 2017. Bidang kepakaran utama Dr. Kumutha termasuk bakteriologi, khususnya dalam patogenesis bakteria, interaksi hos-patogen, rintangan antimikrob, dan pencirian keganasan. Minat penyelidikan beliau terutamanya adalah dalam menggunakan

teknik biologi molekul dan teknologi berkelajuan tinggi seperti proteomik, mikroarray, genomik, metabolomik, fenomik, dan transkriptomik untuk menafsirkan mekanisme patogenesis bakteria serta memahami bagaimana patogen berusaha untuk menekan respons imun hos, menyebarkan diri, dan terus berkembang atau berterusan dalam hos. Sehingga kini, Dr. Kumutha mempunyai lebih daripada 45 penerbitan dalam pelbagai jurnal ternama dengan indeks h sebanyak 13.



Profesor Dr. Jennifer Ann Harikrishna

Profesor

Institute of Biological Sciences

Faculty of Science, Universiti Malaya

Emel: jennihari@um.edu.my

Tel: +603-79675896

Profesor Dr. Jennifer Ann Harikrishna adalah Profesor Genetik & Biologi Molekul di Fakulti Sains, Universiti Malaya, Malaysia. Profesor Dr. Jenni adalah warganegara British dengan status kediaman tetap di Malaysia. Selepas menamatkan Ijazah Sarjana Sains dalam Mikrobiologi di University of Surrey, UK, beliau dianugerahkan Biasiswa Whitbread untuk mengejar tesis doktor dalam bidang genetik molekul yis industri di Cranfield Institute of Technology, Cranfield University, UK. Beliau lulus pada tahun 1990 dan memenangi Pingat Emas Canselor untuk pelajar siswazah terbaik dalam tahun tersebut. Profesor Dr. Jenni kemudiannya berpindah ke Amerika Syarikat untuk menjalani latihan pasca-doktor selama dua tahun di University of California in San Francisco (UCSF). Profesor Dr. Jenni berpindah ke Malaysia pada tahun 1991 di mana beliau meneruskan penyelidikan pasca-doktor di Universiti Malaya, Jabatan Biologi, sebelum menyertai TropBio Research Sdn Bhd, sebuah syarikat bioteknologi tumbuhan swasta kecil pada tahun 1996. Pada tahun 2001, beliau menyertai Institut Biosains di Universiti Putra Malaysia (UPM) sebagai Profesor Madya. Sebelum menyertai semula Universiti Malaya pada tahun 2006, Profesor Dr. Jenni adalah Profesor Madya Bioteknologi di Universiti Sains dan Teknologi Malaysia (MUST). Profesor Dr. Jenni menjadi Profesor Penuh di Universiti Malaya pada tahun 2011 dan memegang jawatan bersama

sebagai ahli Fakulti Sains dan sebagai Pengarah Pusat Penyelidikan dalam Centre for Research in Biotechnology for Agriculture (CEBAR), Universiti Malaya. Profesor Dr. Jenni juga memegang jawatan semasa sebagai Ahli Lembaga Jemputan Kehormat di Jabatan Genetik dan Biologi Genom di University of Leicester, UK. Bidang fokus penyelidikan beliau kini adalah genomik berfungsi tumbuhan bermonokotiledon, termasuk orkid, pisang, padi, dan kelapa sawit.



Profesor Dr. Lau Yee Ling

Profesor

Department of Parasitology

Faculty of Medicine, Universiti Malaya

Emel: lauyeeling@um.edu.my

Tel: +603-79674749

Profesor Dr. Lau Yee Ling pada masa ini adalah Ketua Jabatan Parasitologi, Fakulti Perubatan di Universiti Malaya (UM). Beliau memulakan kerjaya akademiknya sebagai pensyarah di Monash University Kampus Sunway sambil menunggu viva PhD beliau pada tahun 2008. Semasa menjadi pensyarah di Universiti Monash, beliau telah dianugerahkan dua Geran Penyelidikan Universiti Monash yang membolehkannya meneruskan penyelidikan dalam bidang parasitologi molekular. Beliau kemudiannya kembali ke almahalnya, Universiti Malaya, sebagai Pensyarah Kanan pada tahun 2009. Beliau dianugerahkan tempoh kekal pada tahun 2010 dan dipromosikan sebagai Profesor Madya pada tahun 2013, dan Profesor pada tahun 2019.

Kerjaya saintifik Profesor Dr. Lau telah didedikasikan kepada kajian parasit protozoa, termasuk Plasmodium knowlesi dan Toxoplasma gondii, agen penyebab malaria dan toksoplasmosis. Penyakit-penyakit parasit ini memberi tekanan sosial dan ekonomi yang besar. Minat penyelidikan beliau terutamanya memberi tumpuan kepada penggunaan kaedah molekular untuk pengesanan dan pencirian parasit ini yang menjangkiti manusia dan haiwan. Beliau telah berkolaborasi dengan penyelidik tempatan dan antarabangsa, yang membawa kepada penerbitan lebih daripada 180 jurnal ISI, dengan indeks kutipan keseluruhan sebanyak

2598 dan indeks H sebanyak 27. Keunggulan penyelidikan ini telah membolehkannya mendapatkan dan menjadi sebahagian daripada banyak geran penyelidikan antarabangsa dan tempatan, iaitu, Hubert Curien Partnership-Hibiscus (PHC-Hibiscus), ASEAN-India Collaborative R&D scheme, GCRF Global Impact Acceleration Account (GIAA) Impact Fund, High Impact Research Grant, University of Malaya Research Grant, FRGS, E-science, LRGS dan lain-lain, dengan jumlah pendanaan penyelidikan yang kumulatif melebihi RM5 juta. Ini diikuti oleh beberapa hak milik intelek di bawah pinggangnya mengenai diagnosis molekular pantas denggi, malaria dan COVID-19. Sejak tahun 2009, 13 Sarjana dan 17 PhD telah menamatkan pengajian mereka dengan jayanya di bawah bimbingannya. Pada masa ini, terdapat 4 Sarjana dan 8 PhD di bawah bimbingannya.

Dengan pengalaman dalam pengurusan geran, beliau telah memegang beberapa jawatan pentadbiran seperti Ketua Unit Pengurusan Geran, Kumpulan Kesihatan dan Perubatan Translasi dan Fakulti Perubatan, selain menjadi ahli jawatankuasa dalam menilai permohonan FRGS, LRGR dan TRGS di peringkat kebangsaan dan antarabangsa. Beliau menubuhkan Science Café pada tahun 2017, yang terus menjadi saluran utama komunikasi penyelidikan antara klinikal dan saintis di Fakulti Perubatan. Beliau juga ahli jawatankuasa University of Malaya Institutional Biosafety and Biosecurity Committee (IBBC), Animal Experimental Unit, Faculty of Medicine Risk and Quality Management, dan pemeriksa dalaman Fakulti Perubatan.

Pada masa ini, beliau adalah editor-in-chief bagi Journal of Health and Translational Medicine (JUMMEC) Universiti Malaya, editor bagi Asia Pacific Journal of Molecular Biology & Biotechnology dan editor sebahagian bagi BMC Infectious Diseases. Melalui sumbangannya kepada bidang sains, beliau adalah penilai tetap bagi beberapa jurnal antarabangsa seperti Nature Scientific report, Lancet, PLOS One, Parasites & Vectors, Malaria

Journal, International Journal of Tropical Disease & Health dan lain-lain. Dengan pengalaman dan reputasinya yang luas dalam bidang parasitologi molekular, Profesor Dr. Lau sering menjadi penceramah dan perunding yang banyak dicari sama ada di peringkat tempatan atau antarabangsa.

Profesor Dr. Lau telah menjadi ahli aktif Malaysian Society of Parasitology and Tropical Medicine (MSPTM). Beliau adalah ahli jawatankuasa MSPTM pada tahun 2018-2019. Beliau juga aktif dalam Malaysian Society for Biochemistry and Molecular Biology (MSBMB). Beliau adalah Setiausaha Kehormat MSBMB pada tahun 2017-2019 dan Presiden semasa ini.

Keberanian Profesor Dr. Lau dalam penyelidikan hanya dapat sepadan dengan minatnya dalam pengajaran dan pendidikan. Semasa mengendalikan kelas, selain memastikan kuliahnya mudah diikuti, beliau sentiasa cuba untuk mencambah minat dan mendapatkan penyertaan pelajar dengan menggabungkan artikel-artikel terkini dan skenario kehidupan nyata untuk mengilustrasikan relevansi harian subjek pengajaran. Dan kerana keghairahannya terhadap pendidikan, beliau secara sukarela menjadi penyelaras Problem-Based Learning (PBL) Phase II pada tahun 2011, kemudian menjadi penyelaras utama PBL pada tahun 2018. Baru-baru ini, beliau telah aktif dalam mengatur bengkel latihan PBL untuk program UMMP.

Profesor Dr. Lau telah dianugerahkan Anugerah Perkhidmatan Cemerlang Universiti Malaya sebanyak tiga kali pada tahun 2011, 2013 dan 2015. Beliau juga dianugerahkan Pingat Nadchadtram MSPTM pada tahun 2014. Beliau juga telah beberapa kali dianugerahkan atas inovasinya dalam penyelidikan termasuk Hadiah Utama dalam Pertandingan National Exclusive Innovation Challenge Award 2018.



Profesor Dr. Puteri Shafinaz Akmar Binti Abdul Rahman

Profesor

Department of Molecular Medicine

Faculty of Medicine, Universiti Malaya

Emel: terisar@um.edu.my

Tel: +603-79675743

Profesor Dr. Puteri Shafinaz Abdul Rahman menerima pendidikan tahap tinggi di Universiti Malaya. Beliau dianugerahkan *Split-site Doctorate scholarship* oleh *Commonwealth Scholarship and Fellowship Commission United Kingdom* untuk mengejar Ijazah Doktor Falsafah (Proteomik) di *Nottingham Trent University* dan Universiti Malaya. Beliau menyelesaikan pengajian doktor falsafahnya pada tahun 2007 dan, tidak lama selepas itu, menyertai Jabatan Perubatan Molekul, Fakulti Perubatan. Profesor Dr. Puteri adalah ahli pengasas Pusat Penyelidikan Proteomik Universiti Malaya (UMCPR), dan beliau kini mengendalikan pusat tersebut. Beliau aktif terlibat dalam penyelidikan dan telah menerbitkan lebih daripada 45 karya ilmiah yang telah di rujuk, dengan H indeks sebanyak 12 (WOS). Selain itu, beliau juga penerima pelbagai geran penyelidikan dengan jumlah kumulatif lebih daripada RM2.5 juta sebagai Penyelidik Utama dan Penyelidik Kolaboratif. Sejak tahun 2009, 7 orang pelajar Ijazah Sarjana dan 7 orang pelajar Ijazah Doktor telah menamatkan pengajian mereka dengan kejayaan di bawah bimbingannya. Pada masa ini, terdapat 3 orang pelajar Ijazah Sarjana dan 5 orang pelajar Ijazah Doktor di bawah penyaliaannya.

Profesor Dr. Puteri adalah Ketua Unit Makmal Penyelidikan Pusat, sebuah kemudahan bertaraf tinggi yang dilengkapi dengan peralatan penyelidikan proteomik dan genomik di Fakulti Perubatan. Mengambil kira pengalamannya yang luas dalam pengurusan penyelidikan,

beliau juga telah memegang beberapa jawatan pentadbiran di bawah portofolio *DVC Research & Innovation*. Beliau telah dilantik sebagai Timbalan Dekan *Innovative Technology Research Cluster* (2015-2018), Timbalan Dekan *Frontiers of the Natural World Research Cluster* (2019-2021) dan bertindak sebagai penilai untuk menilai pelbagai geran di peringkat kebangsaan dan antarabangsa.

Dari segi penyelidikan, sebagai ahli biologi molekul dan saintis proteomik, kepakaran utama Profesor Dr. Puteri terletak dalam bidang proteomik perbandingan. Pasukannya menggunakan platform proteomik untuk membangunkan profil proteom sampel biologi. Dengan membandingkan profil proteom yang dihasilkan (contohnya, keadaan penyakit vs bukan penyakit, rawatan vs tidak dirawat, peringkat atau tempoh masa yang berbeza), protein-protein yang terganggu atau tidak normal dapat dikesan dan dikenal pasti melalui pendekatan spektrometri jisim. Dengan menggunakan alur kerja ini, pasukannya telah menganalisis profil-sera dari pesakit kanser ginekologi, kanser nasofaring dan kanser tulang untuk mencari biomarker berpotensi untuk pengesanan kanser pada peringkat awal. Dr. Puteri diiktiraf atas kerjanya dalam bidang proteomik kanser ginekologi apabila beliau dipilih sebagai pemenang hadiah pertama *Merck Young Scientist Award* yang berprestij pada tahun 2008. Selain daripada kajian biomarker kanser, pasukannya telah menggunakan teknologi proteomik untuk kajian ke atas produk semulajadi dan ubat herba untuk memahami faedah ekstrak/kompaun ini dan mengungkap asas mekanistik mereka untuk rawatan pelbagai penyakit. Pasukan beliau juga sedang aktif menghasilkan profil protein yang berkaitan dengan *milk fat globule membrane (MFGM)* dan fraksi larut susu manusia dalam perbandingan dengan spesies haiwan lain. Projek semasa mereka memberi tumpuan kepada profil proteom, metabolom, dan sirkadian susu daripada ibu yang menyusukan bayi pada peringkat awal hingga 2 tahun. Matlamatnya adalah

untuk menyiasat hubungan antara unsur-unsur susu bioaktif dan peranan mereka dalam perlindungan imun dan perkembangan pertumbuhan kognitif dan fizikal bayi yang muda.



Dr. Yvonne Liew Jing Mei

Pensyarah

Deputy Vice-Chancellor (Research and Innovation) Office

Universiti Malaya

Emel: yvonnejlm@um.edu.my

Dr. Yvonne Jing Mei Liew merupakan pensyarah awal kerjaya dalam bidang Bioteknologi. Beliau telah menerima Ijazah Doktor Falsafah dalam Bioteknologi dari Universiti Malaya, Malaysia. Kepakaran penyelidikannya adalah dalam bidang biokimia dan biologi molekul. Beliau telah terlibat dalam projek-projek penyelidikan, termasuk biotransformasi flavonoid oleh kultur sel mikrob dan tumbuhan, serta peningkatan pengeluaran metabolit sekunder melalui pengubahsuaian laluan biosintetik. Minat penyelidikan terkini beliau adalah untuk mengenal pasti epitop virus dan menyiasat respons imun yang dipicu oleh epitop virus tersebut. Selain itu, beliau juga berminat untuk membangunkan peptida terapeutik melalui teknologi DNA rekombinan.



Profesor Dr. Rofina Yasmin Binti Othman

Profesor Kehormat

Institute for Advanced Studies (IAS)

Universiti Malaya

Emel: yasmin@um.edu.my

Tel: +603-79675837

Profesor Dr. Rofina Yasmin menamatkan pengajian BSc di University of Surrey dan MSc di University of Malaya kemudian menerima biasiswa *Chevening* untuk mengejar Ijazah Ph.D. dalam Virologi Tumbuhan di John Innes Institute U.K. Beliau menyertai UM sebagai pensyarah di Jabatan Genetik dan Biologi Sel dan telah dilantik sebagai Profesor pada tahun 2005. Beliau juga merupakan ahli terpilih dalam Senat UM sejak tahun 2017 dan wakil senat ke Lembaga UM dari tahun 2019 hingga 2021. Beliau bersara secara rasmi dari UM pada Mei 2021 dan kini terus berkhidmat sebagai Profesor Kehormat di *Institute of Advanced Studies* UM. Beliau juga merupakan *adjunct Profesor* di *IUMW* dan Fellow Kehormat di *Tun Ghazali Shafie Institute for Strategic leadership* di UCYP.

Beliau terus menjadi sebahagian daripada kumpulan penyelidikan yang dinamik dan masih aktif menerbitkan penyelidikan, dengan tumpuan pada penggunaan strategi bioteknologi moden untuk menangani masalah asas dalam pertanian serta isu berkaitan dengan Dasar Bio, Bioetika, dan Keselamatan Biologi. Baru-baru ini, beliau terlibat dalam penyusunan semula *ASMs Science Outlook 2020 review* dan *National Biotechnology Policy II*. Beliau telah mendaftarkan lebih daripada 10 paten dan telah melahirkan lebih daripada 20 pelajar PhD dan 25 pelajar MSc. Beliau adalah Fellow Akademi Sains Malaysia dan disenaraikan dalam pangkalan Data Saintis Penyelidikan Teratas Malaysia. Beliau adalah salah seorang penasihat

asas Institut Bioteknologi Kebangsaan Malaysia, salah seorang ahli pengasas Asian Network for Biosafety Education, dan merupakan ahli pakar dalam Lembaga Keselamatan Biologi Kebangsaan untuk dua sesi. Yasmin adalah ketua pertama Pusat Penyelidikan dalam Bioteknologi untuk Pertanian dan pengerusi Kumpulan Bioteknologi dan Bioproduct Universiti (UMBIO). Beliau juga merupakan editor ketua Asia-Pacific Journal for Molecular Biology and Biotechnology. Pada tahun 2009, beliau meninggalkan UM untuk pelantikan kedua selama 3 tahun di Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi Malaysia sebagai Timbalan Setiausaha Bahagian Bioteknologi Kebangsaan. Semasa berkhidmat, Malaysia melancarkan Inisiatif Bioekonomi Malaysia yang direka untuk merangsang pertumbuhan industri bioteknologi. Semasa berkhidmat, beliau memimpin jawatankuasa yang membawa kepada penubuhan Majlis Bioetika Kebangsaan. Beliau juga duduk di Lembaga Pengarah MARDI, Lembaga Pengarah ICGEB, Trieste dan merupakan National Point of Contact (NPC) for UNESCO's Microbial Biotechnology Network dan SEA-EU-NET (Biotech). Sebelum bersara, beliau adalah Naib Canselor Adjunk (Industri & Komuniti) dan sebelum itu Pengarah Pusat Inovasi & Komersialisasi Universiti Malaya. Dalam peranan-peranan ini, beliau memberi tumpuan kepada pembinaan ekosistem keusahawanan universiti dan memupuk penglibatan dan kerjasama dengan industri dan komuniti. Beliau juga merupakan Naib Presiden Pengasas Persatuan Pengurus Inovasi dan Teknologi Malaysia. Beliau juga wakil di Lembaga MaGIC (mymagic.my) dan lebih baru-baru ini di lembaga UMIInnovations SB, UMPlantations SB, UMCapital Berhad dan Xeraya Capital. Beliau juga merupakan seorang Fellow ICDM.



Puan Nor Hidayah Ismail

Pegawai Penyelidik Kanan

Bahagian Pengurusan Geran Penyelidikan, Institut Pengurusan
dan Perkhidmatan Penyelidikan (IPPP), Universiti Malaya

Emel: nor_hidayah@um.edu.my



Puan Haryana Rozana Abdul Rahim

Pegawai Penyelidik Sosial

Bahagian Pengurusan Geran Penyelidikan, Institut Pengurusan
dan Perkhidmatan Penyelidikan (IPPP), Universiti Malaya

Emel: hrozana@um.edu.my



Cik Wong Kar Cheng

Penolong Penyelidik

Pusat Penyelidikan Proteomik Universiti Malaya (UMCPR)
Universiti Malaya

Emel: wongkarcheng@gmail.com