

Menilai Potensi Polisakarida yang Diekstrak daripada *Arthrospira platensis* A1 sebagai Sumber Prebiotik kepada *Bacillus velezensis* FS26

(Evaluating the Potential of Polysaccharides Extracted from *Arthrospira platensis* A1 as a Prebiotic Source to *Bacillus velezensis* FS26)

MUHAMAD FIRDAUS SYAHMI SAM-ON^{1,2,*}, SHUHAIMI MUSTAFA^{3,4}, MOHD TERMIZI YUSOF³,
AMALIA MOHD HASHIM^{3,4} & SHAHRIZIM ZULKIFLY⁵

¹Department of Food Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

²Innovation Centre for Confectionery Technology (MANIS), Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

³Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Biomolecular Sciences, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

⁴Halal Products Research Institute, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

⁵Department of Biology, Faculty of Science, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 9 April 2025/Diterima: 8 Oktober 2025

ABSTRAK

Prebiotik ialah karbohidrat tidak hadam yang digunakan secara selektif oleh probiotik untuk memberi manfaat kepada kesihatan perumah. *Arthrospira platensis* berpotensi sebagai prebiotik kerana kehadiran polisakarida kompleks dalam strukturnya. Walau bagaimanapun, tiada kajian yang memfokuskan kepada potensi prebiotik daripada polisakarida sianobakteria ini. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk menilai polisakarida yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 dan kesan prebiotiknya terhadap pertumbuhan probiotik akuakultur *B. velezensis* FS26. Polisakarida larut air telah diekstrak daripada *A. platensis* A1 menggunakan kaedah pemanasan bertekanan tinggi (121 °C, 15 minit) dan air panas (90 °C, 3 jam). Polisakarida mentah bagi kedua-dua kaedah pengekstrakan menunjukkan >85% ketidakcernaan dalam jus gastrik (pH 1-5) pada pengesanan sehingga enam jam. Puncak utama dalam analisis FTIR telah dikesan masing-masing pada panjang gelombang 860, 1000-1200 dan 3300-3400 cm⁻¹, menunjukkan kehadiran ikatan α-glikosidik, cincin piranosa dan getaran hidroksil. Kehadiran sebatian larut air turut dikesan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300-400 nm dalam kedua-dua ekstrak polisakarida. Selain itu, polisakarida daripada *A. platensis* boleh digunakan oleh probiotik *B. velezensis* FS26 berdasarkan ujian karbohidrat merah fenol yang mana berlaku perubahan warna merah ke kuning/oren. Di samping itu, polisakarida yang diekstrak menggunakan pemanasan bertekanan tinggi menunjukkan pertumbuhan yang ketara untuk *B. velezensis* FS26 dalam kedua-dua media diperkaya dan minimum masing-masing pada bacaan 0.6×10^9 dan 7.1×10^9 CFU/mL, berbanding ekstrak air panas, inulin atau tiada karbohidrat. Kesimpulannya, polisakarida mentah daripada *A. platensis* A1 mempunyai aktiviti prebiotik untuk probiotik *B. velezensis* FS26 dan berpotensi sebagai sinbiotik dalam akuakultur.

Kata kunci: Akuakultur; *Arthrospira platensis* A1; *Bacillus velezensis* FS26; polisakarida larut air; prebiotik

ABSTRACT

A prebiotic is a nondigestible carbohydrate which selectively utilised by probiotic microbes to benefit the hosts' health. *Arthrospira platensis* has the potential to act as a prebiotic due to the presence of complex polysaccharides in its structure. However, no studies have focused on the prebiotic potential of polysaccharides from this cyanobacterium. Thus, the study aims to evaluate the crude polysaccharide extracted from *A. platensis* A1 and its prebiotic effect on the growth of aquacultural probiotic *B. velezensis* FS26. Water-soluble polysaccharides were extracted from *A. platensis* A1 using high-pressure heating (121 °C, 15 min) and hot water (90 °C, 3 h). The crude polysaccharide, obtained using both extraction methods, demonstrated >85% indigestibility in gastric juice after six hours of incubation. Major peaks in the FTIR analysis were detected at wavelengths of 860, 1000-1200, and 3300-3400 cm⁻¹, indicating the presence of α-glycosidic bonds, pyranose rings, and hydroxyl vibrations, respectively. Moreover, the UV-Vis spectrophotometer identified the presence of water-soluble compounds at wavelengths 300-400 nm in both extracted polysaccharides. Additionally, the extracted polysaccharides that could be utilised by the probiotic *B. velezensis* FS26, based on the phenol red carbohydrate test, which showed a colour change from red to yellow/orange. Besides, the high-pressure heating-extracted crude polysaccharide

exhibited significant growth for *B. velezensis* FS26 in both enriched and minimal media at 0.6×10^9 and 7.1×10^9 CFU/mL, respectively, as compared to media without prebiotics or added polysaccharides. In conclusion, the extracted polysaccharide from *A. platensis* A1 possesses prebiotic activity for probiotic *B. velezensis* FS26 and holds potential as a synbiotic in aquaculture.

Keywords: Aquaculture; *Arthrospira platensis* A1; *Bacillus velezensis* FS26; prebiotic; water-soluble polysaccharide

PENDAHULUAN

Arthrospira (Spirulina) *platensis* ialah alga biru-hijau atau cyanobacteria dengan morfologi lingkaran dan filamen yang boleh ditemui dalam air tawar dan air masin (Zanolla et al. 2022). Kini, Spirulina semakin dipasarkan sebagai makanan berfungsi atau nutraseutikal kerana nilai pemakanannya (de Marco Castro, Shannon & Abu-Ghannam 2019). Vitamin dan mineral penting termasuk zat besi, kalsium dan vitamin B12 banyak terdapat dalam *A. platensis* (El-Sheekh et al. 2014). Selain itu, ikan dan udang boleh berkembang dan bertahan dengan lebih baik kerana kehadiran sianobakteria ini dalam diet mereka, yang mungkin mengurangkan keperluan untuk makanan akuakultur komersial yang mahal (Napolitano et al. 2022).

Arthrospira platensis telah terbukti mempunyai sifat prebiotik, menunjukkan bahawa ia boleh menggalakkan pertumbuhan dan aktiviti bakteria usus yang bermanfaat (Golmakani et al. 2019; Niccolai et al. 2019). Prebiotik ialah 'substrat yang digunakan secara selektif oleh mikroorganisma perumah untuk memberi manfaat kesihatan' (Gibson et al. 2017). Banyak penyelidikan telah membuktikan kebanyakan karbohidrat telah dikenali sebagai prebiotik, seperti inulin, mannan oligosakarida, raffinose, β -glukan dan xylooligosakarida (Amorim et al. 2020; Beisner et al. 2021; Craig et al. 2020; Suryawanshi & Kango 2021; Yuan et al. 2023). Dalam pengertian definisi prebiotik, beberapa kajian melaporkan bahawa *Arthrospira platensis* mengandungi polisakarida kompleks dan dikaji selanjutnya sebagai prebiotik (Casciano, Nissen & Gianotti 2021; Hajati, Zaghari & Oliveira 2020; Joya, Ashayerizadeh & Dastar 2020; Liu et al. 2022).

Walaupun terdapat banyak kajian tentang potensi penggunaan *A. platensis* sebagai prebiotik, namun tiada kajian mengenai aktiviti prebiotik sianobakteria ini untuk membiak probiotik akuakultur *Bacillus* spp. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk menilai polisakarida mentah yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 dan kesan prebiotiknya terhadap pertumbuhan probiotik akuakultur *B. velezensis* FS26.

BAHAN DAN KAEDAH

BAHAN

Kultur tulen dan serbuk *Arthrospira platensis* A1 dibeli daripada Algae International Berhad di Port Dickson, Negeri Sembilan, Malaysia. *B. velezensis* FS26 digunakan sebagai kultur probiotik dalam uji kaji ini. Bakteria ini sebelum ini diiktiraf sebagai probiotik berpotensi dalam

akuakultur dan boleh menggunakan prebiotik komersial melalui kajian *in silico* dan *in vitro* (Sam-on et al. 2023b, 2023a, 2022). Tiga strain bakteria telah diperolehi daripada Jabatan Mikrobiologi, Universiti Putra Malaysia dan digunakan sebagai kawalan dalam kajian ini, iaitu *Lactiplantibacillus plantarum* ATTC 8014 (kawalan positif), *Aeromonas hydrophila* LMG 13658 (kawalan negatif) dan *Vibrio parahaemolyticus* PKK24 (kawalan negatif).

PENGEKAMAN MIKROSKOPIK DAN MOLEKUL *A. platensis* A1

Pengenalpastian *Arthrospira platensis* A1 menggunakan kultur tulen telah disahkan menggunakan kaedah mikroskop dan molekul. Kultur *A. platensis* tulen diperhatikan di bawah mikroskop majmuk pada pembesaran 400x dan 1000x. Kemudian, kultur tulen *A. platensis* A1 dikenal pasti lagi menggunakan kaedah molekul. Pertama, DNA sianobakteria telah diekstrak menggunakan kit pengekstrakan DNA (Promega, U.S.A.), berdasarkan arahan pengilang.

Urutan primer rRNA 16S digunakan untuk menguatkan segmen 1.5 kbp gen 16S rRNA dalam DNA mikroalga. Set primer telah digunakan iaitu 27F (5'-AGAGTTTGATCMTG GCTCAG-3') dan 1492R (5'-CGGTTACCTTGTTACG ACTT-3') sebagai primer ke hadapan dan belakang. Tindak balas PCR disediakan untuk tindak balas 50 μ L. Penyelesaian itu dicampurkan 25 μ L Green Taq PCR Master Mix (2x), 1 μ L setiap primer (0.5 μ M) dan 1 μ L templat DNA (100 ng) dan 12 μ L air bebas nuklease.

Produk PCR telah disahkan menggunakan elektroforesis gel dan diperhatikan di bawah cahaya UV menggunakan sistem Gel Doc. Kemudian, sampel dihantar untuk perkhidmatan pembersihan dan penjujukan PCR di Apical Scientific Sdn. Bhd. Urutan yang dipasang dibandingkan dengan jujukan rujukan dengan melakukan carian BLAST pada pangkalan data NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>). Pohon filogenetik pengasingan telah dibina menggunakan analisis jiran-menyambung (NJ) dengan 1000 replika butstrap dalam MEGA7.

PENGEKSTRAKAN POLISAKARIDA DARIPADA *A. platensis* A1

Satu (1) gram serbuk mikroalga dan lima puluh mililiter air suling pada mulanya dicampur dalam bikar. Dua kaedah telah digunakan untuk mengekstrak polisakarida larut air daripada mikroalga: pemanasan bertekanan tinggi

menggunakan mesin autoklaf dan air panas. Keadaan untuk pengekstrakan menggunakan mesin autoklaf dijalankan pada 121 °C selama 15 minit, manakala pengeraman untuk pengekstrakan air panas dijalankan pada 90 °C selama tiga jam (Jadual 1). Kemudian, supernatan dikumpul menggunakan sentrifugasi pada 10,000 rpm selama 10 minit, dikeringkan dalam ketuhar dan dianalisis untuk jumlah gula dan gula penurun. Jumlah polisakarida tidak boleh larut air dalam ekstrak ditentukan dengan terlebih dahulu menganalisis jumlah gula penurun (mg/mL) menggunakan kaedah asid dinitrosalisilik yang diubah suai (Miller 1959), diikuti dengan analisis lanjut jumlah kandungan gula (mg/mL), dengan kaedah fenol sulfurik (Fox & Robyte 1991). Jumlah polisakarida tidak boleh larut (mg/mL) dalam ekstrak dikira seperti berikut:

$$\text{Jumlah polisakarida tidak boleh larut (mg/mL)} = \text{Jumlah gula (mg/mL)} - \text{Jumlah gula penurun (mg/mL)}$$

DARJAH HIDROLISIS UNTUK EKSTRAK POLISAKARIDA

Tahap hidrolisis ekstrak polisakarida daripada *A. platensis* A1 dikaji menggunakan jus gastrik tiruan. Komposisi jus gastrik tiruan disediakan dengan mencampurkan pepsin (1:10 000, ICN, Sigma) ke dalam larutan garam yang telah disteril (0.5%, w/v) sehingga mencapai kepekatan akhir larutan pepsin pada 3 g L⁻¹ dan melaraskan pH kepada 1-5 dengan 5 M HCl (Blaiotta et al. 2013). Kemudian, penimbal (5 mL pada setiap pH) ditambah kepada larutan sampel 1% w/v (5 mL) dan dieram pada suhu 37 °C selama enam jam. Satu (1) mL sampel polisakarida dalam larutan jus gastrik dikumpulkan pada 0, 1, 2, 3 dan 6 jam untuk analisis jumlah kandungan gula penurun dan jumlah keseluruhan gula. Darjah hidrolisis polisakarida mentah dikira menggunakan formula berikut:

$$\text{Peratus hidrolisis} = \left(\frac{\text{Gula penurun}}{\text{keseluruhan gula}} - \text{nilai awal gula penurun} \right) \times 100\%$$

ANALISIS SPEKTROSKOPI FTIR DAN UV-VIS EKSTRAK POLISAKARIDA

Spektrum polisakarida yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 telah diukur menggunakan spektrofotometer transformasi Fourier inframerah (FTIR) pada panjang gelombang 650-4,000 nm untuk mengenal pasti kumpulan berfungsi OH-hidroksil (3,300-3,400 cm⁻¹), getaran regangan C-C dan C-O dalam gelang piranosa (1,000-1,200 cm⁻¹) dan konformer α (870-840 cm⁻¹), manakala konformer β (890 cm⁻¹). Kemudian, polisakarida mentah tersebut telah diperiksa menggunakan spektrofotometer keternampakan ultraungu (UV-Vis) pada panjang gelombang 190-900 nm untuk mengkaji kumpulan kromofor atom dengan peralihan elektronik yang menyerap pada gelombang 300-400 nm.

ANALISIS KEUPAYAAN PENGGUNAAN EKSTRAK OLEH PROBIOTIK

Ujian karbohidrat merah fenol (PRC) digunakan untuk mengkaji keupayaan penggunaan polisakarida yang diekstrak oleh *B. velezensis* FS26 (James & Natalie 2014; Sam-on et al. 2023a). Selain itu, *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio parahaemolyticus* digunakan sebagai strain negatif, manakala *Lactiplantibacillus plantarum* sebagai strain positif. Satu (1)% kultur yang telah dihidupkan semalaman telah disuntik dalam kaldu PRC yang mengandungi 10 g/L polisakarida mentah. Media PRC tanpa karbohidrat, glukosa dan inulin digunakan masing-masing sebagai kawalan negatif, positif dan prebiotik. Setiap satu bakteria yang dinyatakan dieram pada suhu bilik (25 °C) selama 72 jam dengan kelajuan 150 rpm. Kemudian, kultur diemparkan pada 13,000 rpm selama 10 minit dan pelet dibuang. Supernatan dikumpul dan menjalani bacaan dibaca pada OD 540 nm menggunakan spektrofotometer. Selain itu, meter pH digunakan untuk menentukan nilai pH kaldu PRC selepas pengeraman. pH lebih dan kurang daripada 7 masing-masing menunjukkan keputusan negatif dan positif. Selain itu, kaldu PRC dengan perubahan dari

JADUAL 1. Analisis pengekstrakan polisakarida larut air *Arthrospira platensis* A1

Keadaan	Kaedah pengekstrakan	
	Air panas	Pemanasan bertekanan tinggi
Suhu	90 °C	121 °C
Pemanasan	30-45 min	40-55 min
Masa pengekstrakan	180 min	15 min
Menyejukkan badan	10-20 min	20-30 min
Jumlah masa	220- 245 min	75-100 min
Nisbah alga (g): air (mL)	1:50	1:50
Sampel nisbah: bekas	1:5	1:5

merah kepada kuning/oren menunjukkan hasil yang positif. Manakala tiada perubahan pada warna merah kaldu PRC, menunjukkan hasil yang negatif.

KESAN POLISAKARIDA MENTAH PADA PERTUMBUHAN *B. velezensis* FS26

Kesan polisakarida yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 terhadap pertumbuhan *B. velezensis* FS26 ditentukan menggunakan kaedah Mohd Shafullah et al. (2025) dan Zhu, Ren dan Peng (2021) dengan beberapa pengubahsuaian. Kultur *B. velezensis* FS26 telah diinokulasi ke dalam kaldu nutrien (medium diperkaya) dan medium Spizizen (medium minimum) yang mengandungi 10 g/L polisakarida mentah, inulin (kawalan positif) atau tiada prebiotik (kawalan negatif). Bakteria telah diinkubasi pada suhu bilik (25 °C) selama 72 jam dengan 150 rpm dalam inkubator shaker berputar. Kaedah titis plat digunakan untuk mengukur pertumbuhan bakteria dalam CFU/mL. Analisis diulang sebanyak tiga kali.

ANALISIS STATISTIK

Analisis varians sehala (ANOVA) telah dijalankan menggunakan perisian IBM SPSS Statistics (versi 26, Chicago, U.S.A.). Analisis statistik dinilai menggunakan ujian HSD Tukey pada tahap $p < 0.05$.

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

PENGEKSTRAKAN MIKROSKOPIK DAN MOLEKUL *A. platensis* A1

Pemerhatian mikroskopik *A. platensis* A1 ditunjukkan dalam Rajah 1(a) dan 1(b) dengan sianobakteria menunjukkan warna hijau dengan benang panjang sel alga yang tidak bergelung diperhatikan. Gen primer 16S rRNA turut digunakan bagi pengesahan *A. platensis* secara molekul dengan membuat konformasi menggunakan pohon filogenetik seperti yang ditunjukkan pada Rajah 1(c). Keputusan penjujukan menunjukkan bahawa peratusan persamaan *A. platensis* A1 ialah 99.55% dengan *A. platensis* NIES-46. Pemerhatian mikroskopik sedikit berbeza daripada kajian oleh Sivalingam (2020) yang menunjukkan benang lingkaran *Spirulina platensis* di bawah mikroskop. Oleh itu, Borowitzka (2018) menyiratkan bahawa trikoma *A. platensis* biasanya distrukturkan sebagai heliks yang lebih padat. Walau bagaimanapun, bergantung kepada keadaan sekitaran dan nutrisi, ia boleh berubah menjadi lingkaran longgar atau filamen lurus.

Walaupun *A. platensis* dikenali sebagai sejenis mikroalga, identiti molekul mikrob berada di bawah kategori bakteria. Oleh itu, *A. platensis* juga dikelaskan sebagai sianobakteria (Hachicha et al. 2022; Zanolli et al. 2022). Perlu dinyatakan bahawa mikroalga termasuk dalam kategori organisma eukariotik kerana mereka kekurangan gen 16S rRNA dan mempunyai gen 18S rRNA. Walau

bagaimanapun, Zainul (2016) menunjukkan bahawa mikroalga boleh dikelaskan kepada organisma eukariotik dan prokariotik. Mikroalga eukariotik dan prokariotik boleh dikenal pasti menggunakan 18S rRNA dan 16S rRNA, masing-masing.

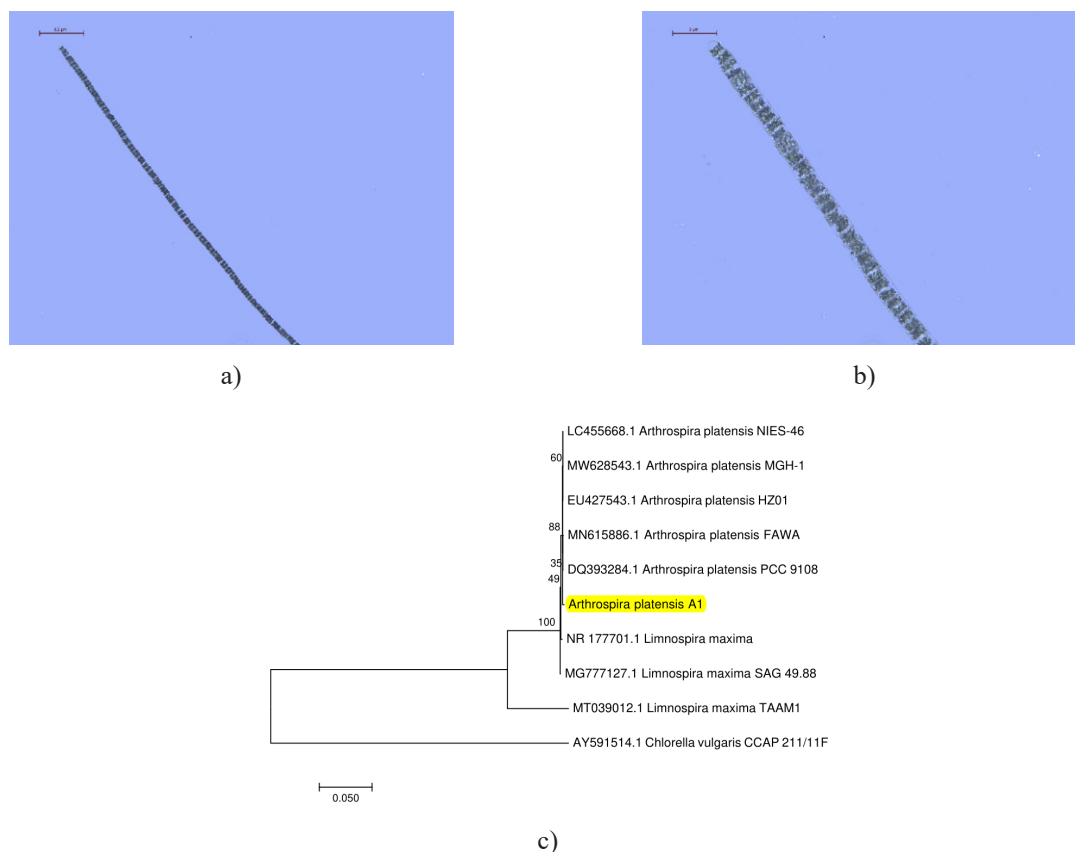
PENGEKSTRAKAN EKSRAK POLISAKARIDA DARIPADA *A. platensis* A1

Rajah 2 menunjukkan dua kaedah telah digunakan untuk mengekstrak polisakarida larut air daripada *A. platensis* A1 (pemanasan bertekanan tinggi dan air panas). Kaedah pemanasan bertekanan tinggi menunjukkan nilai karbohidrat yang lebih tinggi dan mengurangkan nilai gula penurun berbanding kaedah air panas. Walau bagaimanapun, nilai gula bukan penurun tidak menunjukkan perbezaan yang ketara antara kedua-dua kaedah pengekstrakan. Penemuan ini mendedahkan bahawa kedua-dua teknik pengekstrakan tidak menjejaskan hasil polisakarida daripada *A. platensis* A1. Walau bagaimanapun, pemanasan bertekanan tinggi hanya memerlukan 75-100 minit bagi menyelesaikan proses pengekstrakan berbanding air panas pada 220-245 minit.

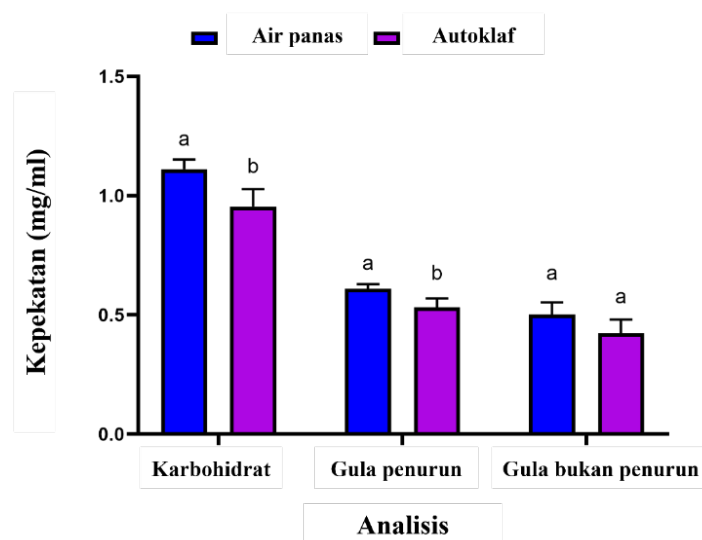
Pengekstrakan polisakarida daripada tumbuhan atau alga secara tradisinya dijalankan menggunakan air panas (Chen et al. 2021; Shi 2016; Zhou et al. 2020). Pelbagai pemboleh ubah mempengaruhi proses pengekstrakan, termasuk suhu, tempoh, jumlah air yang berkaitan dengan bahan mentah, bilangan pengekstrakan dan hasil polisakarida yang diekstrak. Idea mengekstrak polisakarida larut air daripada *A. platensis* A1 adalah serupa dengan beberapa kajian oleh Chaiklahan et al. (2014), Wang et al. (2018) dan Zhu, Ren dan Peng (2012). Dalam kajian ini, suhu yang digunakan untuk pengekstrakan air panas ialah 90 °C, yang tekal dengan Chaiklahan et al. (2014), yang mendapati polisakarida yang diekstrak daripada *Spirulina* menunjukkan hasil tertinggi pada suhu 90 °C. Walau bagaimanapun, kekurangan signifikan dalam hasil pengekstrakan polisakarida menggunakan kaedah autoklaf dan air panas bercanggah dengan Jahromi et al. (2016), yang melaporkan bahawa autoklaf memberikan hasil yang lebih tinggi untuk polisakarida yang diekstrak daripada kek isirung sawit berbanding pendekatan air panas.

DARJAH HIDROLISIS UNTUK EKSTRAK POLISAKARIDA

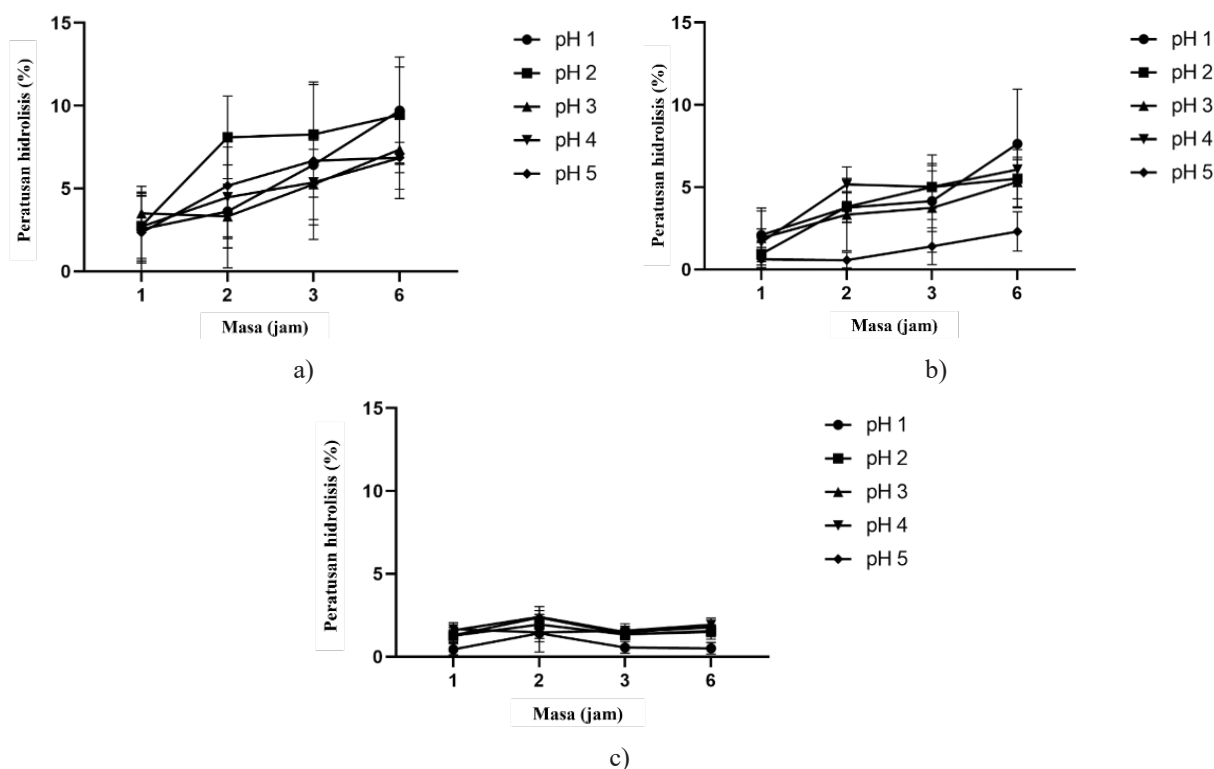
Rajah 3 menunjukkan tahap hidrolisis untuk polisakarida mentah yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 selepas satu, dua, tiga dan enam jam penderaman dalam jus gastrik manusia tiruan. Seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 3(a) dan 3(b), kedua-dua kaedah pengekstrakan menghasilkan hidrolisis kurang daripada 15% selepas enam jam penderaman. Sebagai perbandingan, inulin mempunyai hidrolisis terendah dengan kurang daripada 5%, seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 3(c). Hasilnya menunjukkan bahawa polisakarida mentah menunjukkan lebih daripada 85% tidak boleh dihidrolisis dalam jus gastrik manusia tiruan, manakala inulin lebih daripada 95%.



RAJAH 1. Pengenalpastian *Arthrospira platensis* A1 melalui analisis mikroskopik dan molekul. Pemerhatian mikroskopik yang digunakan a) 40x dan b) kuasa pembesaran 100x. Pemerhatian molekul (c) hubungan evolusi taksa menggunakan perisian MEGA7. *Chlorella vulgaris* CCAP 211/11F digunakan sebagai kumpulan luar



RAJAH 2. Pengekstrakan polisakarida larut air daripada *Arthrospira platensis* A1 menggunakan pemanasan bertekanan tinggi dan air panas. Nilai mewakili min $\pm$ SD rangkap tiga. Perbezaan huruf superskrip yang berbeza menunjukkan (nilai $p < 0.05$), seperti yang ditentukan oleh ujian HSD Tukey berdasarkan setiap analisis secara berasingan. Autoklaf merujuk kepada pemanasan bertekanan tinggi



RAJAH 3. Darjah hidrolisis untuk polisakarida mentah yang diekstrak daripada *Arthrospira platensis* A1 menggunakan jus gastrik manusia tiruan. a) Pengekstrakan pemanasan bertekanan tinggi; b) Pengekstrakan air panas; c) Inulin (kawalan)

Selaras dengan kajian ini, Anwar et al. (2021) mendedahkan bahawa polisakarida larut air yang diekstrak daripada taro (*Colocasia esculenta*) mempunyai lebih daripada 85% ketidakcernaan dalam jus gastrik manusia tiruan. Selain itu, polisakarida yang diekstrak daripada *Panax notoginseng* menunjukkan lebih daripada 16% telah dihidrolisis dalam jus gastrik (Shen et al. 2022). Perubahan komposisi polisakarida dan monosakarida boleh menyebabkan kesan ketidakhadaman yang berbeza-beza dalam ujian hidrolisis. Chen et al. (2021) menyatakan bahawa polisakarida berasid sering mengalami perubahan yang minimum semasa pencernaan gastrousus. Oleh kerana polisakarida mentah yang diekstrak daripada *Arthrospira platensis* A1 menunjukkan kurang daripada 15% hidrolisis, ia berpotensi berdaya tahan dalam saluran gastrousus perumah sebagai prebiotik.

ANALISIS SPEKTROSKOPI FTIR DAN UV-VIS ESKTRAK POLISAKARIDA

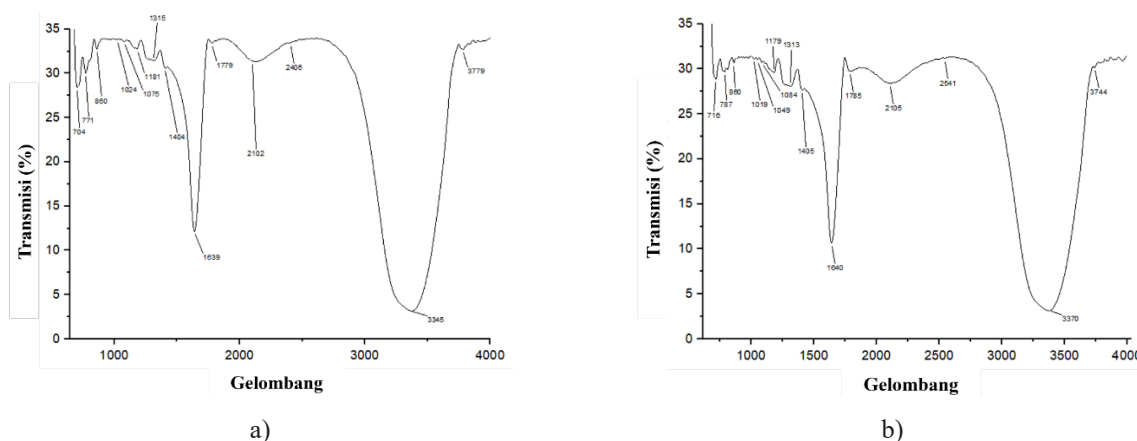
Rajah 4 menunjukkan spektrum FTIR bagi polisakarida mentah yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 menggunakan kaedah pengekstrakan pemanasan bertekanan tinggi dan air panas. Konformer α terletak di puncak 870-840 cm^{-1} , manakala konformer β boleh dilihat pada puncak 890 cm^{-1} (Azmi et al. 2012). Kedua-dua kaedah pengekstrakan autoklaf dan air panas menunjukkan

puncak pada panjang gelombang 860 cm^{-1} , menunjukkan bahawa polisakarida mentah yang diekstrak mengandungi ikatan α -glikosidik. Kehadiran α -konfigurasi berpotensi disebabkan oleh kehadiran glikogen dalam sampel. Phéllippé et al. (2019) melaporkan bahawa pengekstrakan karbohidrat daripada sianobakteria yang mengandungi glikogen dan menurut Daghlal dan Mohiuddin (2019), polisakarida ini larut dalam air dan mengandungi ikatan α -glikosidik. Selain itu, penemuan ini tekal dengan kajian terdahulu oleh Li et al. (2020) yang mendedahkan jalur pada 868 cm^{-1} yang menandakan kehadiran konfigurasi α dalam prebiotik berpotensi yang diekstrak. Kajian oleh Li et al. (2020) menunjukkan bahawa puncak pada 868 cm^{-1} menunjukkan kehadiran α -D-galaktopiranososa.

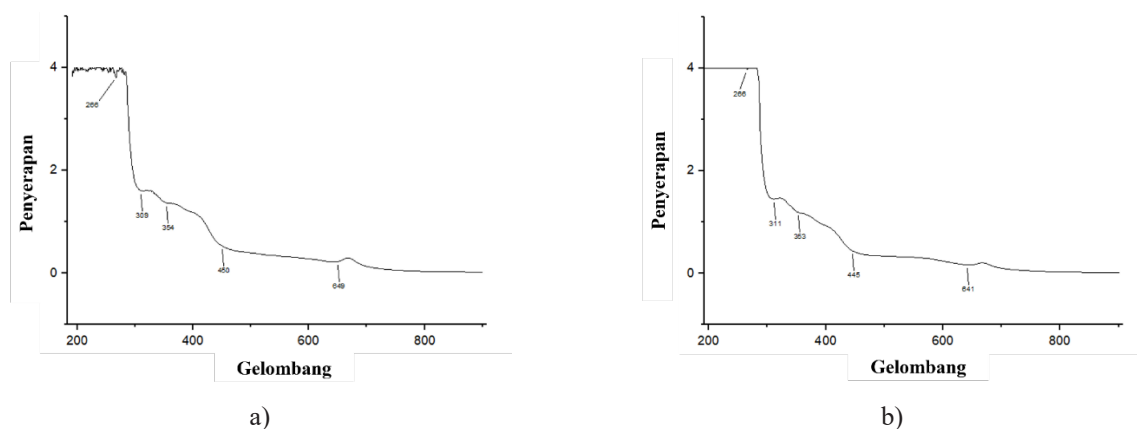
Tambahan pula, puncak dalam julat 1,000-1,200 cm^{-1} menunjukkan bahawa polisakarida adalah komponen utama yang didominasi oleh sumbangan daripada getaran regangan C-C dan C-O dalam gelang piranosa. Ini selari dengan kajian oleh Shen et al. (2022), yang menunjukkan puncak pada 1102 dan 1021 cm^{-1} dan dianggap sebagai cincin piranosa untuk polisakarida yang diekstrak daripada sampel *Panax notoginseng*. Selain itu, Lukova et al. (2020) menunjukkan puncak pada panjang gelombang 1017 cm^{-1} disebabkan oleh kehadiran fungsi karbohidrat (C-O) atau cincin piranosa dalam polisakarida yang diekstrak daripada daun Plantago.

Puncak luas boleh diperhatikan dalam kedua-dua pengekstrakan pada panjang gelombang 3345 dan 3370 cm^{-1} . Penyerapan terutamanya disebabkan oleh mod getaran regangan OH- hidroksil yang memberikan puncak yang luas sekitar 3,300-3,400 cm^{-1} (Hu et al. 2017). Bello et al. (2018) melaporkan bahawa puncak yang luas boleh diperhatikan pada panjang gelombang 3279.62 cm^{-1} air polisakarida yang diekstrak daripada kek isirong sawit sebagai prebiotik yang berpotensi. Begitu juga, Shen et al. (2022) melaporkan kehadiran jalur kuat yang dikaitkan dengan kumpulan O-H pada 3427 cm^{-1} daripada polisakarida yang diekstrak daripada *Panax notoginseng*. Benaoun et al. (2017) dan Lukova et al. (2020) menyatakan bahawa kehadiran puncak luas pada 3285 cm^{-1} dalam polisakarida yang diekstrak daripada daun *Plantago* menunjukkan regangan OH- hidroksil serta penyerapan air.

Selain itu, spektroskopi UV-Vis digunakan untuk mengkaji kehadiran sebatian polisakarida larut air. Rajah 5 menunjukkan kehadiran puncak serapan pada 309 dan 354 nm untuk pengekstrakan pemanasan bertekanan tinggi, serta 311 dan 363 nm untuk pengekstrakan air panas. Kehadiran puncak serapan pada julat 300-400 nm menunjukkan kewujudan kumpulan kromofor, iaitu atom dengan peralihan elektronik yang menyerap tenaga cahaya. Kumpulan ini menandakan kehadiran sebatian larut air yang dihasilkan oleh sianobakteria, selaras dengan penemuan oleh Trabelsi et al. (2009). Penyerapan dalam julat tersebut juga dikaitkan dengan kehadiran sebatian seperti asid amino mirip mikosporin (MAA) dan skitonemin (Sinha & Häder 2008). Ini selari dengan laporan yang menunjukkan MAA menyerap cahaya UV terutamanya dalam julat UV-A (320-400 nm) dan UV-B (290-320 nm),



RAJAH 4. Analisis FTIR bagi polisakarida mentah yang diekstrak daripada *Arthrospira platensis* A1. a) Pengekstrakan pemanasan bertekanan tinggi; b) Pengekstrakan air panas. Spektrum diukur pada spektrofotometer FTIR pada panjang gelombang 650-4000 nm



RAJAH 5. Analisis spektroskopi UV-VIS polisakarida mentah yang diekstrak daripada *Arthrospira platensis* A1. Panjang gelombang analisis UV-VIS diperhatikan pada 190-900 nm. a) Pengekstrakan pemanasan bertekanan tinggi; b) Pengekstrakan air panas

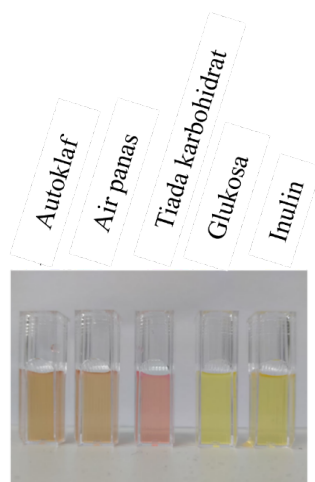
dengan penyerapan maksimum berlaku antara 310 hingga 362 nm (Jain, Prajapat & Agrawal 2018; Richa et al. 2018). Skitonemin pula menyerap cahaya secara meluas sekitar 370 nm dan memanjang ke dalam spektrum tampak. Ia disintesis dan terkumpul dalam lapisan EPS (polisakarida luar) sianobakteria sebagai strategi perlindungan terhadap sinaran UV (Soule, Shipe & Lothamer 2016).

KESAN EKSTRAK POLISAKARIDA TERHADAP PERTUMBUHAN *B. velezensis* FS26

Keupayaan *B. velezensis* FS26 untuk menggunakan ekstrak polisakarida yang diasingkan daripada *A. platensis*

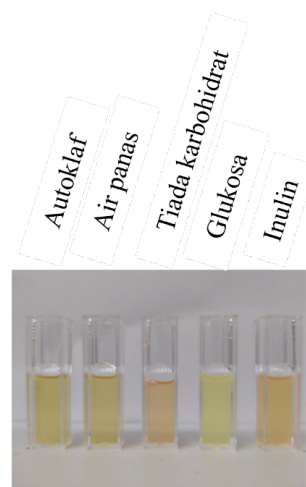
A1 telah dinilai menggunakan ujian karbohidrat merah fenol. Rajah 6 menunjukkan bahawa *B. velezensis* FS26 dapat menggunakan polisakarida mentah daripada kedua-dua kaedah pengekstrakan dengan pengurangan pH yang ketara dan perubahan dalam warna media selepas 72 jam pengamatan, serupa dengan kawalan positif *L. plantarum*. Sementara itu, pH dan spektrum warna kultur *Aeromonas* dan *Vibrio* tidak berubah, menunjukkan tiada keupayaan penggunaan terhadap polisakarida mentah. Hal ini menunjukkan terdapat aktiviti prebiotik daripada polisakarida mentah pada *B. velezensis* FS26.

Rajah 7 menunjukkan bahawa polisakarida yang diekstrak melalui pemanasan bertekanan tinggi dan inulin



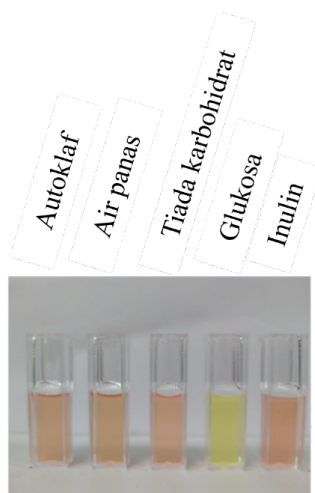
Bacillus velezensis FS26

a)



Lactiplantibacillus plantarum ATCC 8014

b)



Aeromonas hydrophila LMG13658

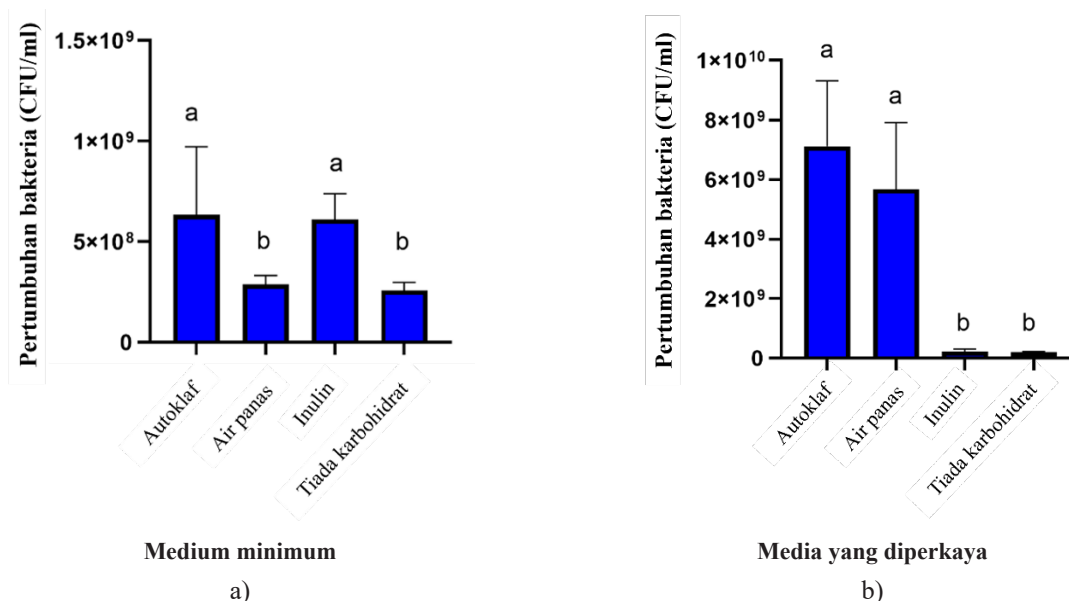
c)



Vibrio parahaemolyticus PKK24

d)

RAJAH 6. Ujian karbohidrat merah fenol. Warna kuning/oren menunjukkan hasil positif (penapaian berlaku) manakala warna merah menunjukkan keputusan negatif (tiada penapaian berlaku). Warna diperhatikan selepas pengamatan selama 72 jam. Bakteria yang diuji ialah a) *Bacillus velezensis* FS26, b) *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014 (kawalan positif), c) *Aeromonas hydrophila* (kawalan negatif), d) *Vibrio parahaemolyticus* (kawalan negatif). Autoklaf merujuk kepada pemanasan bertekanan tinggi



RAJAH 7. Aktiviti prebiotik terhadap pertumbuhan probiotik *Bacillus velezensis* FS26 selepas 72 jam. Inulin dan tiada karbohidrat digunakan sebagai kawalan positif dan negatif untuk setiap satunya. Nilai mewakili min $\pm$ SD rangkap tiga. Perbezaan huruf superskrip yang berbeza menunjukkan (nilai $p < 0.05$) seperti yang ditentukan oleh ujian HSD Tukey untuk setiap satu analisis. Autoklaf merujuk kepada pemanasan bertekanan tinggi

dalam medium diperkaya menghasilkan pertumbuhan *B. velezensis* FS26 yang lebih tinggi, berbanding pengekstrakan air panas dan tiada karbohidrat. Manakala, penambahan polisakarida yang diekstrak melalui pemanasan bertekanan tinggi dan air panas dalam medium minimum menghasilkan pertumbuhan yang lebih tinggi secara signifikan untuk strain *B. velezensis* FS26 selepas penderaman 72 jam berbanding media dengan inulin dan tiada karbohidrat pada bacaan 7.1×10^9 dan 5.8×10^9 CFU/mL. Penemuan ini menunjukkan bahawa polisakarida yang diekstrak melalui pemanasan bertekanan tinggi mempunyai aktiviti prebiotik yang sangat baik untuk *B. velezensis* FS26 dalam kedua-dua media diperkaya dan minimum. Sebaliknya, polisakarida mentah yang diekstrak melalui air panas dan inulin menunjukkan aktiviti prebiotik untuk *B. velezensis* FS26 hanya dalam media minimum dan diperkaya sahaja. Selepas penderaman 72 jam, penurunan nilai pH menunjukkan bahawa strain *Bacillus* dan *Lactiplantibacillus* boleh menggunakan ekstrak polisakarida daripada *A. platensis* A1 sebagai sumber karbon.

Penggunaan prebiotik meningkatkan pengeluaran asid lemak rantai pendek yang secara beransur-ansur menurunkan pH kaldu yang dicapai bersama-sama dengan peningkatan pertumbuhan bakteria (Markowiak-Kopeć & Śliżewska 2020). Selain itu, Azmi et al. (2012) melaporkan penurunan dalam nilai pH media kultur selepas penderaman, menunjukkan bahawa probiotik *Bifidobacterium animalis*, *B. longum* dan *Lactobacillus*

acidophilus boleh menggunakan polisakarida tidak hadam larut air yang diekstrak daripada pucuk *Gigantochloa levis* sebagai sumber karbon. Tambahan pula, peningkatan dalam pertumbuhan *B. velezensis* FS26 selepas menambah polisakarida mentah kepada medium cecair adalah tekal dengan kajian terdahulu oleh Ricigliano dan Simone-Finstrom (2020) yang mendapati bahawa *Spirulina* meningkatkan bilangan bakteria baik dalam mikrobiom lebah. Di samping itu, Golmakani et al. (2019) dan Niccolai et al. (2019) melaporkan bahawa *A. platensis* secara positif boleh merangsang pertumbuhan bakteria asid laktik probiotik, termasuk *Lactobacillus plantarum* dan *Lactocaseibacillus casei* melalui kajian *in vitro*.

KESIMPULAN

Polisakarida larut air yang diekstrak daripada *A. platensis* A1 menunjukkan potensi sebagai prebiotik untuk pertumbuhan *B. velezensis* FS26. Kaedah pemanasan bertekanan tinggi menggunakan pemanasan bertekanan tinggi mahupun pengekstrakan air panas (90 °C) menunjukkan tiada perbezaan signifikan dari segi hasil polisakarida mentah. Polisakarida yang diekstrak daripada kedua-dua kaedah pemanasan bertekanan tinggi dan air panas menunjukkan kadar rintang hidrolisis yang tinggi terhadap jus gastrik. Secara keseluruhannya, polisakarida daripada *A. platensis* A1 berpotensi sebagai sumber prebiotik bagi probiotik *B. velezensis* FS26 bagi meningkatkan produktiviti akuakultur dan menyumbang kepada keselamatan makanan yang mampan.

PENGHARGAAN

Kertas ini disokong oleh geran Geran Galakan Penyelidik Muda (GGPM) [GGPM-2024-016] Universiti Kebangsaan Malaysia. Kami ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Fakulti Bioteknologi dan Sains Biomolekul, Universiti Putra Malaysia kerana menyediakan kemudahan untuk projek ini.

RUJUKAN

- Amorim, C., Silvério, S.C., Cardoso, B.B., Alves, J.I., Pereira, M.A. & Rodrigues, L.R. 2020. *In vitro* fermentation of raffinose to unravel its potential as prebiotic ingredient. *LWT* 126: 109322.
- Anwar, M., Mros, S., McConnell, M. & Bekhit, A.E.D.A. 2021. Effects of extraction methods on the digestibility, cytotoxicity, prebiotic potential and immunomodulatory activity of taro (*Colocasia esculenta*) water-soluble non-starch polysaccharide. *Food Hydrocolloids* 121: 107068.
- Azmi, A.F.M.N., Mustafa, S., Hashim, D.M. & Manap, Y.A. 2012. Prebiotic activity of polysaccharides extracted from *Gigantochloa levis* (Buluh beting) shoots. *Molecules* 17(2): 1635-1651.
- Beisner, J., Filipe Rosa, L., Kaden-Volynets, V., Stolzer, I., Günther, C. & Bischoff, S.C. 2021. Prebiotic inulin and sodium butyrate attenuate obesity-induced intestinal barrier dysfunction by induction of antimicrobial peptides. *Frontiers in Immunology* 12: 678360.
- Benaoun, F., Delattre, C., Boual, Z., Ursu, A.V., Vial, C., Gardarin, C., Wadouachi, A., Le Cerf, D., Varacavoudin, T., El-Hadj, M.D.O., Michaud, P. & Pierre, G. 2017. Structural characterization and rheological behavior of a heteroxylan extracted from *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) seeds. *Carbohydrate Polymers* 175: 96-104.
- Blaiotta, G., La Gatta, B., Di Capua, M., Di Luccia, A., Coppola, R. & Aponte, M. 2013. Effect of chestnut extract and chestnut fiber on viability of potential probiotic *Lactobacillus* strains under gastrointestinal tract conditions. *Food Microbiology* 36(2): 161-169.
- Borowitzka, M.A. 2018. Biology of microalgae. Dlm. *Microalgae in Health and Disease Prevention*, disunting oleh Levine, I.A. & Fleurence, J. Academic Press. hlm. 23-72.
- Casciano, F., Nissen, L. & Gianotti, A. 2021. Effect of formulations and fermentation processes on volatile organic compounds and prebiotic potential of gluten-free bread fortified by spirulina (*Arthrospira platensis*). *Food & Function* 12(20): 10226-10238.
- Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Triratana, P., Tia, S. & Bunnag, B. 2014. Effect of extraction temperature on the diffusion coefficient of polysaccharides from *Spirulina* and the optimal separation method. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 19: 369-377.
- Chen, H., Zeng, J., Wang, B., Cheng, Z., Xu, J., Gao, W. & Chen, K. 2021. Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods. *Carbohydrate Polymers* 266: 118149.
- Craig, A.D., Khattak, F., Hastie, P., Bedford, M.R. & Olukosi, O.A. 2020. Xylanase and xylo-oligosaccharide prebiotic improve the growth performance and concentration of potentially prebiotic oligosaccharides in the ileum of broiler chickens. *British Poultry Science* 61(1): 70-78.
- Daghlas, S.A. & Mohiuddin, S.S. 2019. *Biochemistry, Glycogen*. StatPearls Publishing LLC.
- de Marco Castro, E., Shannon, E. & Abu-Ghannam, N. 2019. Effect of fermentation on enhancing the nutraceutical properties of *Arthrospira platensis* (Spirulina). *Fermentation* 5(1): 28.
- El-Sheekh, M., El-Shourbagy, I., Shalaby, S. & Hosny, S. 2014. Effect of feeding *Arthrospira platensis* (Spirulina) on growth and carcass composition of hybrid red tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 14(2): 471-478.
- Fox, J.D. & Robyt, J.F. 1991. Miniaturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader. *Analytical Biochemistry* 195(1): 93-96.
- Gibson, G.R., Hutkins, R.W., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.D., Verbeke, K. & Reid, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 14(8): 491-502.
- Golmakani, M.T., Soleimani-Zad, S., Alavi, N., Nazari, E. & Eskandari, M.H. 2019. Effect of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) powder on probiotic bacteriologically acidified feta-type cheese. *Journal of Applied Phycology* 31: 1085-1094.
- Hachicha, R., Elleuch, F., Ben Hlima, H., Dubessay, P., de Baynast, H., Delattre, C., Pierre, G., Hachicha, R., Abdelkafi, S., Michaud, P. & Fendri, I. 2022. Biomolecules from microalgae and cyanobacteria: Applications and market survey. *Applied Sciences* 12(4): 1924.
- Hajati, H., Zaghari, M. & Oliveira, H.C. 2020. *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* can be considered as a probiotic alternative to reduce heat stress in laying Japanese quails. *Brazilian Journal of Poultry Science* 22(1): 001-008.
- Hu, Y., Shi, S., Lu, L., Teng, C., Yu, S., Wang, X., Yu, M., Liang, J. & Qu, J. 2017. Effects of selenizing modification on characteristics and antioxidant activities of *Inonotus obliquus* polysaccharide. *Macromolecular Research* 25: 222-230.

- Jahromi, M.F., Liang, J.B., Abdullah, N., Goh, Y.M., Ebrahimi, R. & Shokryazdan, P. 2016. Extraction and characterization of oligosaccharides from palm kernel cake as prebiotic. *BioResources* 11(1): 674-695.
- Jain, S., Prajapat, G. & Agrawal, A. 2018. A taxonomical study of mycosporine-like amino acids producing cyanobacteria. Dlm. *Sunscreen*, disunting oleh Rastogi, R.P., Nova Science Publishers Inc. hlm. 131-151.
- James, C. & Natalie, S. 2014. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Pearson Education.
- Joya, M., Ashayerizadeh, O. & Dastar, B. 2020. Effects of *Spirulina (Arthrospira) platensis* and *Bacillus subtilis* PB6 on growth performance, intestinal microbiota and morphology, and serum parameters in broiler chickens. *Animal Production Science* 61(4): 390-398.
- Li, R., Tang, N., Jia, X., Nirasawa, S., Bian, X., Zhang, P. & Cheng, Y. 2020. Isolation, physical, structural characterisation and *in vitro* prebiotic activity of a galactomannan extracted from endosperm splits of Chinese *Sesbania cannabina* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules* 162: 1217-1226.
- Liu, C., Liu, H., Zhu, X., Han, D., Jin, J., Yang, Y. & Xie, S. 2022. The effects of dietary *Arthrospira platensis* on oxidative stress response and pigmentation in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Antioxidants* 11(6): 1100.
- Lukova, P., Nikolova, M., Petit, E., Elboutachfai, R., Vasileva, T., Katsarov, P., Manev, H., Gardarin, C., Pierre, G., Michaud, P., Iliev, I. & Delattre, C. 2020. Prebiotic activity of poly-and oligosaccharides obtained from *Plantago major* L. leaves. *Applied Sciences* 10(8): 2648.
- Markowiak-Kopeć, P. & Śliżewska, K. 2020. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients* 12(4): 1107.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31(3): 426-428.
- Mohd Shafullah, A.S., Sam-On, M.F.S., Mustafa, S., Ramlan, A.N. & Yusof, M.T. 2025. Evaluation of the potential agricultural biocontrol of chitin-degrading *Paenibacillus alvei* FS1 through dual screening approaches and poison food agar assay. *International Microbiology* 28: 2161-2174.
- Napolitano, G., Venditti, P., Agnisola, C., Quartucci, S., Fasciolo, G., Tomajoli, M.T.M., Geremia, E., Catone, C.M. & Ulgiati, S. 2022. Towards sustainable aquaculture systems: Biological and environmental impact of replacing fishmeal with *Arthrospira platensis* (Nordstedt)(Spirulina). *Journal of Cleaner Production* 374: 133978.
- Niccolai, A., Shannon, E., Abu-Ghannam, N., Biondi, N., Rodolfi, L. & Tredici, M.R. 2019. Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (Spirulina) biomass for probiotic based products. *Journal of Applied Phycology* 31: 1077-1083.
- Phélippé, M., Gonçalves, O., Thouand, G., Cogne, G. & Laroche, C. 2019. Characterization of the polysaccharides chemical diversity of the cyanobacteria *Arthrospira platensis*. *Algal Research* 38: 101426.
- Richa, Pathak, J., Sonker, A.S., Singh, V. & Sinha, R.P. 2018. Potential applications of natural bioactive cyanobacterial UV-protective compounds. *Blue Biotechnology: Production and Use of Marine Molecules* 2: 683-707.
- Ricigliano, V.A. & Simone-Finstrom, M. 2020. Nutritional and prebiotic efficacy of the microalga *Arthrospira platensis* (Spirulina) in honeybees. *Apidologie* 51(5): 898-910.
- Sam-on, M.F.S., Mustafa, S., Hashim, A.M., Yusof, M.T., Zulkifly, S. & Roslan, M.A.H. 2023a. Determination of prebiotic utilisation capability of potential probiotic *Bacillus velezensis* FS26 through *in silico* and *in vitro* approaches. *Food Bioscience* 53: 102566.
- Sam-on, M.F.S., Mustafa, S., Mohd Hashim, A., Yusof, M.T., Zulkifly, S., Abdul Malek, A.Z., Roslan, M.A.H. & Mohd Asrore, M.S. 2023b. Mining the genome of *Bacillus velezensis* FS26 for probiotic markers and secondary metabolites with antimicrobial properties against aquaculture pathogens. *Microbial Pathogenesis* 181: 106161.
- Sam-on, M.F.S., Mustafa, S., Yusof, M.T., Mohd Hashim, A., Abbasiliasi, S., Zulkifly, S., Jahari, M.A. & Roslan, M.A.H. 2022. Evaluation of three *Bacillus* spp. isolated from the gut of giant freshwater prawn as potential probiotics against pathogens causing Vibriosis and Aeromonosis. *Microbial Pathogenesis* 164: 105417.
- Shen, S., Zhou, C., Zeng, Y., Zhang, H., Hossen, M.A., Dai, J., Li, S., Qin, W. & Liu, Y. 2022. Structures, physicochemical and bioactive properties of polysaccharides extracted from *Panax notoginseng* using ultrasonic/microwave-assisted extraction. *LWT* 154: 112446.
- Shi, L. 2016. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 92: 37-48.
- Sinha, R.P. & Häder, D.P. 2008. UV-protectants in cyanobacteria. *Plant Science* 174(3): 278-289.
- Sivalingam, K.M. 2020. Isolation, identification and evaluation of *Spirulina platensis* for its effect on seed germination of groundnut (*Arachis hypogaea* L.), Wolaita Sodo, Southern Ethiopia. *Journal of Algal Biomass Utilization* 11(2): 34-42.

- Soule, T., Shipe, D. & Lothamer, J. 2016. Extracellular polysaccharide production in a scytonemin-deficient mutant of *Nostoc punctiforme* under UVA and oxidative stress. *Current Microbiology* 73(4): 455-462.
- Suryawanshi, R.K. & Kango, N. 2021. Production of mannooligosaccharides from various mannans and evaluation of their prebiotic potential. *Food Chemistry* 334: 127428.
- Trabelsi, L., M'sakni, N.H., Ben Ouada, H., Bacha, H. & Roudesli, S. 2009. Partial characterization of extracellular polysaccharides produced by cyanobacterium *Arthrospira platensis*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 14: 27-31.
- Wang, B., Liu, Q., Huang, Y., Yuan, Y., Ma, Q., Du, M., Cai, T. & Cai, Y. 2018. Extraction of polysaccharide from *Spirulina* and evaluation of its activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2018: 3425615.
- Yuan, C., Hu, R., He, L., Hu, J. & Liu, H. 2023. Extraction and prebiotic potential of β -glucan from highland barley and its application in probiotic microcapsules. *Food Hydrocolloids* 139: 108520.
- Zainul, R. 2016. Isolation and molecular identification of freshwater microalgae in Maninjau Lake West Sumatra. *Der Pharmacia Lettre* 8(20): 177-187.
- Zanolla, V., Biondi, N., Niccolai, A., Abiusi, F., Adessi, A., Rodolfi, L. & Tredici, M.R. 2022. Protein, phycocyanin, and polysaccharide production by *Arthrospira platensis* grown with LED light in annular photobioreactors. *Journal of Applied Phycology* 34(3): 1189-1199.
- Zhou, P., Eid, M., Xiong, W., Ren, C., Ai, T., Deng, Z., Li, J. & Li, B. 2020. Comparative study between cold and hot water extracted polysaccharides from *Plantago ovata* seed husk by using rheological methods. *Food Hydrocolloids* 101: 105465.
- Zhu, J., Ren, S. & Peng, J. 2012. Optimization of polysaccharide extraction from *Spirulina platensis* by cell freeze-thaw cooperated with hot water extraction and deproteinization. *Food Science* 33: 111-116.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: firdaussyahmi97@ukm.edu.my