

**JUDUL : EVALUASI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DAN KEMAMPUAN PROBIOTIK
SERTA UJI ENZIMATIS DARI YEAST *Rhodotorula mucilaginosa* Galur PK-S20**

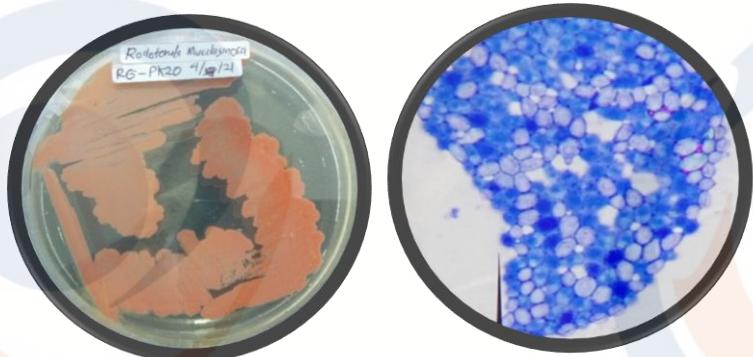
 Peneliti	 Ringkasan Eksekutif
<p>Ketua : Seprianto, S.Pi, M.Si</p> <p>Anggota :</p> <p>Febriana Dwi Wahyuni, S.Pd, M.Si</p> <p>Dr.Titta Novianti S.Si, M.Biomed</p>	<p>Probiotik merupakan mikroba baik yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikrobiota dalam sistem gastrointestinal. Kelompok yeast yang telah di laporkan memiliki potensial sebagai probiotik adalah genus <i>Rhodotorula</i>. <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> di Indonesia sendiri belum ada dilaporkan dengan cara dieksplorasi sebagai kandidat probiotik. Yeast ini diisolasi dari ragi alami fermentasi kismis. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui kemampuan probiotik dan kemampuan aktivitas antimikroba, serta enzimatis ektrakseluler yang dihasilkan oleh <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> PK-S20. Hasil penelitian menunjukkan bahwa <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Galur PK-S20 potensial sebagai probiotik karena mampu tumbuh baik pada media dengan pH rendah dan garam empedu serta kemampuan resistensi terhadap antibiotik. Hasil uji enzimatis menunjukkan yeast <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Galur PK-S20 hanya memiliki aktivitas amilase yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat serta perubahan warna pada media pertumbuhan. Pengujian ekstrak etil asetat dari <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Galur PK-S20 menunjukkan adanya aktivitas antimikroba yang cukup tinggi terhadap <i>Escherichia coli</i>, <i>Listeria monocytogene</i>, <i>Staphylococcus Aureus</i> dan <i>Salmonella enteridis</i> dan aktivitas yang kecil dalam menghambat pertumbuhan <i>Pseudomonas Auroginosa</i>, <i>Salmonella enteridis</i>, dan <i>Salmonella thypimurium</i> untuk pengujian filtrat media YPD broth.</p> <p>Keyword: probiotik, <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>, garam empedu, antimikroba</p> <p> HKI dan Publikasi</p>

 Latar Belakang	 Hasil dan Pembahasan
--	--

Probiotik merupakan mikroba baik yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikrobiota dalam sistem gastrointestinal. Pertumbuhan bakteri patogen dapat ditekan oleh bakteri menguntungkan yang terdapat dalam makanan dan minuman probiotik sehingga dapat menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. Berbagai macam penelitian telah membuktikan luasnya potensi probiotik dalam bidang farmakologi, pakan, dan pangan, khususnya pada efeknya dalam mempromosikan kesehatan konsumennya seperti menjaga kesehatan mikrobiota usus, menginhibisi kanker, menghilangkan kolesterol, dan meningkatkan produksi bakteriosin yang dapat membantu melawan bakteri patogen (Rizal et al., 2016).

Produksi pangan probiotik pada dasarnya melibatkan teknik fermentasi. Fermentasi merupakan suatu proses dekomposisi zat organik yang disebabkan oleh mikroorganisme atau enzim yang pada dasarnya mengubah karbohidrat menjadi alkohol atau asam organik (Swain et al., 2014). Teknologi ini juga dapat dijadikan sebagai upaya pencarian mikroba potensial probiotik baik dari golongan bakteri maupun yeast. Produk probiotik telah menjadi bidang yang berkembang pesat baik di Indonesia maupun global, menjadikan probiotik sebagai prospek pasar yang luas dengan nilai-nilai komersil yang tinggi dalam pengembangan industri pangan dan pakan. Namun, sumber daya probiotik belum sepenuhnya berkembang. Pembentukan industrialisasi probiotik dan keberadaan produksi skala kecil seperti industri rumah tangga dan keragaman produk yang dihasilkan pada umumnya tidak memenuhi persyaratan produk pangan probiotik yang diinginkan, hal ini

Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan koloni bewarna merah muda dengan bentuk koloni sirkular dengan tepian *undulate* (bergelombang). Warna khas ini merupakan hasil dari pigmen karotenoid yang dibuat oleh yeast untuk memblokir panjang gelombang tertentu dari cahaya yang dapat merusak sel (El-Ziney et al., 2018). Pengamatan mikroskopis sel menggunakan mikroskop dengan perlakuan sel diwarnai dengan metilen biru. Karakteristik yeast ini memiliki bentuk sel bulat sampai panjang dengan ukuran sel lebar 2,5-6,5 μm dan panjang 6,5-14 μm . Yeast yang terwarnai oleh zat metilen biru menunjukkan kematian pada sel, sedangkan yang tidak terwarnai adalah sel yang masih hidup. Menurut (Shen et al., 2014) bahwa hal ini menunjukkan terjadinya oksidasi pada sel yeast yang telah mati oleh zat metilen biru karena membran yang dimiliki oleh yeast yang telah mati tidak lagi bersifat semi permeabel.



Gambar 1. Pengamatan makroskopis dan mikroskopis *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20. (A). koloni yeast (B) bentuk sel yeast

***Rhodotorula mucilaginosa* Galur PK-S20 sebagai Kandidat Probiotik**

Salah satu syarat utama agar suatu mikroorganisme dapat dimanfaatkan sebagai probiotik ialah toleransi terhadap pH rendah dan garam empedu. Hasil pengujian sifat probiotik menunjukkan bahwa nilai OD₆₆₀ biakan yeast ialah > 0,01 setelah ditumbuhkan dalam media dengan pH rendah maupun media yang mengandung *bile salt*. Biakan *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20 mengalami pertumbuhan sel yang cukup signifikan setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (28 °C) dengan kondisi terkocok pada kondisi pH rendah. Hal ini dibuktikan dengan nilai OD yang diukur pada saat sel ditambahkan pada media pertumbuhan (0 Jam) lebih rendah dibandingkan dengan pengukuran pada saat 48 jam kecuali pada pH 2 yang mengalami sedikit penurunan jumlah sel dari OD₆₆₀

dikarenakan kurang beragamnya pilihan mikroorganisme yang digunakan sebagai sumber probiotik.

Salah satu jenis mikroorganisme dari kelompok yeast yang telah dilaporkan memiliki potensial sebagai probiotik adalah genus *Rhodotorula* (Bonatsou et al., 2018). *Rhodotorula* sp. adalah yeast uniseluler yang ditandai dengan tingkat pertumbuhan yang tinggi diberbagai habitat. Beberapa spesies dari *Rhodotorula* merupakan organisme saprofit yang dapat diisolasi dari sumber lingkungan seperti tanah, air tawar, air laut, fermentasi susu, salad buah, fermentasi buah dan sayur (Sattarova & K. Sattarova, 2013). Bahkan Yu et al., (2015) melaporkan *Rhodotorula mucilaginosa* strain JMUY14 berhasil diisolasi dari sedimen laut dalam antartica. Yeast ini memiliki warna kuning, orange atau merah dan dikenal sebagai yeast karetogenik atau yeast merah muda karena memiliki kemampuan produksi karotenoid yang mana senyawa ini dilaporkan memiliki kemampuan aktivitas antimikroba kepuasan kerja dan niat untuk berhenti) (misalnya, Kivimaki et al. 2003; Spurgeon, Harrington & Cooper, 1997; Vuaha, Pentti & Kivimaki, 2004; van den Berg et al., 2009).

0,7005 (0 jam) menjadi OD₆₆₀ 0,5871 (48 jam), hal ini dikarenakan media kultivasi terlalu asam (Tabel 2). Kemampuan tumbuh pada pH rendah diindikasikan mampu untuk bertahan dalam saluran pencernaan dan dianggap mewakili kondisi asam lambung. Mekanisme ketahanan yeast probiotik di dalam asam lambung dapat terjadi melalui modifikasi pembungkus sel, kemampuan memperbaiki DNA, pengaturan pompa proton dan kemampuan enzim dekarboksilase asam amino dalam mengkonsumsi ion H⁺ (Djide & Asri, 2019). Yeast dapat bertahan pada kisaran pH yang luas sehingga beberapa spesies yeast telah dilaporkan dari lingkungan yang sangat asam, pada pH 2 - 5 (Czerucka et al., 2007) Dalam penelitian ini, *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20 dipilih bertahan pada pH asam (pH 3 – 5). Toleransi asam yang ditunjukkan oleh *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20 sesuai dengan laporan dari penelitian sebelumnya yang menilai spesies ini potensi sebagai probiotik.

Tabel 1. Nilai OD_{660 nm} pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa*

No	Perlakuan pH	OD _{660 nm}	
		0 Jam	48 Jam
1	2	0,7005	0,5871
2	3	1,0281	1,9418
3	5	1,2525	2,1306
4	6	1,0722	2,1335

PK-S20 pada berbagai pH



Metode

Isolat *Rhodotorula mucilaginosa* Galur PK-S20 yang tumbuh pada media PDA inkubasi 48 jam dilakukan pengamatan koloni dan sel secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan

Hasil uji sifat probiotik menunjukkan bahwa isolat ini memiliki potensi sebagai probiotik. Hal ini ditunjukkan dengan nilai OD_{660 nm} pertumbuhan sel pada media YPD broth yang telah diberi perlakuan dengan berbagai kosentrasi bile salt dari jam ke nol (0 jam) mengalami peningkatan yang cukup signifikan pertumbuhan sel setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (28 °C) (Tabel 3). Ketahanan sel yeast *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20 pada garam empedu menunjukkan kemampuan kelangsungan hidup secara in vitro di saluran pencernaan. Peningkatan jumlah sel menunjukkan persentase kelangsungan hidup dari strain yeast dalam asam

makroskopis yang meliputi tekstur, tepi, elevasi, warna, dan bentuk koloni.

Prekultur *Rhodotorula mucilaginosa* Galur PK-S20 pada medium cair *Yeast Extract-Peptone-Dextrose* (YPD), dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama 2 hari (48 jam) dalam *waterbath shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Setelah diperoleh fermentasi yang terbaik pada hari ke-5, Cairan fermentasi diekstraksi sebanyak 2 kali dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah dengan *dishaker* selama 20 menit. Ekstrak yang terlarut dalam etil asetat

Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi (Younis et al., 2017). Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bakteri dan fungi. Bakteri patogen yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteriditis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella thypimurium* dan *Bacillus subtilis*.

Prosedur pengujian sifat probiotik dilakukan mengikuti (Ogunremi et al., 2015) dengan modifikasi. Pengujian pada media dengan perlakuan pH rendah dan garam empedu (*bile salt*) dalam media YPD broth.

Uji enzimatis yang dilakukan meliputi uji enzim amilase, lipase, protease, dan selulase. Uji amilase dilakukan pada

lambung dengan kelangsungan hidup yang baik. Kondisi usus yang disimulasikan dengan penambahan garam empedu dengan berbagai konsentrasi menunjukkan bahwa konsentrasi 2% *bile salt* mengalami peningkatan densitas sel tertinggi dari OD₆₆₀ 0,4555 (0 jam) menjadi OD₆₆₀ 2,1966 (48 jam) (Tabel 2). Strain yeast dalam penelitian ini menunjukkan toleransi hingga 2% konsentrasi garam empedu dengan variasi pola kelangsungan hidup mereka. *Anomalus wickerhamomyces* bertahan dalam 0,6% garam empedu (García-Hernández et al., 2012). Toleransi terhadap konsentrasi garam empedu 2% juga dilaporkan untuk strain *Trichosporon cutaneum*, *Candida rugosa* dan *Candida lambica* (Gotcheva et al. 2002). Kelangsungan hidup pada konsentrasi garam empedu 2% jarang dilaporkan untuk bakteri asam laktat (BAL) probiotik (Ogunremi et al., 2015)

Tabel 2. Nilai OD₆₆₀ nm pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20 pada berbagai konsentrasi *bile salt*

No	Konsentrasi <i>Bile Salt</i> (%)	OD ₆₆₀ nm	
		0 Jam	48 Jam
1	0,3	1,6288	2,0586
2	0,5	1,1453	2,1268
3	1	0,7168	2,1198
4	2	0,4555	2,1966

Sumber : data primer

Kandidat probiotik lainnya dapat diukur dengan kemampuan mikroba yang tahan terhadap aktivitas antibiotik (*antibiotic resistant*). Pengujian ini dilakukan dengan 5 jenis antibiotik yang spektrum aktivitas yang luas dan spesifik yaitu tetracycline, clorampenicol, amoxylin, streptomycin dan ciprofloxacin dengan masing – masing konsentrasi 5 ppm (Tabel 4).

Tabel 3. Resistensi antibiotik dari *Rhodotorula mucilaginosa* PK-S20

Antibiotik	Konsentrasi antibiotik (ppm)	Respon

medium PDA	Tetracyclin Clorampenicol Amoxylin Streptomycin Ciprofloxacin	5 5 5 5 5	R R R R R
<i>R: resisten</i>			
Pengujian aktivitas antibakteri dari filtrat yeast <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Galur PK-S20 dengan pelarut etil asetat terhadap 7 spesies bakteri patogen diantaranya <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella enterididis</i> , <i>Listeria monocytogen</i> <i>Salmonella thypimurium</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> . Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat (<i>clear zone</i>) pada media NA (<i>nutrient agar</i>) yang terdapat bakteri uji di sekitar kertas cakram dengan berbagai perlakuan			
 Skema LITABMAS Skema penelitian internal			 Ucapan terimakasih

DAFTAR PUSTAKA

- Adelabu, B. A., Kareem, S. O., Oluwafemi, F., & Abideen Adeogun, I. (2019). Bioconversion of corn straw to ethanol by cellulolytic yeasts immobilized in Mucuna urens matrix. *Journal of King Saud University - Science*, 31(1), 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.07.005>
- Ana, P. A. de O., Maria, A. S., Heloiza, F. A.-P., Andre, R., Marcelo, F. da P., Gustavo, G. F., & Rodrigo, S. R. L. (2015). Bioprospecting of yeasts for amylase production in solid state fermentation and evaluation of the catalytic properties of enzymatic extracts. *African Journal of Biotechnology*, 14(14), 1215–1223. <https://doi.org/10.5897/ajb2014.14062>
- Bajaj, B. K., Raina, S., & Singh, S. (2013). Killer toxin from a novel killer yeast *Pichia kudriavzevii* RY55 with idiosyncratic antibacterial activity. *Journal of Basic Microbiology*, 53(8), 645–656. <https://doi.org/10.1002/jobm.201200187>
- Bonatsou, S., Karamouza, M., Zoumpopoulou, G., Mavrogonatou, E., Kletsas, D., Papadimitriou, K., Tsakalidou, E., Nychas, G. J. E., & Panagou, E. (2018). Evaluating the probiotic potential and technological characteristics of yeasts implicated in cv. Kalamata natural black olive fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 271(February), 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.018>
- Carrasco, M., Villarreal, P., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V., & Baeza, M. (2016). Screening and characterization of amylase and cellulase activities in psychrotolerant yeasts. *BMC Microbiology*, 16(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0640-8>
- Chen, M., Chen, X., Tian, L., Liu, Y., & Niu, J. (2020). Enhanced intestinal health , immune responses and ammonia resistance in Paci fi c white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed dietary hydrolyzed yeast (*Rhodotorula mucilaginosa*) and *Bacillus licheniformis*.

- Aquaculture Reports*, 17(May), 100385. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100385>
- Cissé, H., Kagambèga, B., Sawadogo, A., Tankoano, A., Sangaré, G., Traoré, Y., Irène, I., Ouoba, L., & Savadogo, A. (2019). Affiliations : Laboratory of Applied Biochemistry and Immunology , University Joseph KI-ZERBO , 03 BP Institute Rural Economy of Bamako , BP 258 Bamako , Mali Contact: *Scientific African*, e00175. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00175>
- Coelho, A. R., Celli, M. G., Ono, E. Y. S., Wosiacki, G., Hoffmann, F. L., Pagnocca, F. C., & Hirooka, E. Y. (2007). *Penicillium expansum* versus antagonist yeasts and patulin degradation in vitro. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(4), 725–733. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000400019>
- Czerucka, D., Piche, T., & Rampal, P. (2007). Review article: Yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 26(6), 767–778. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03442.x>
- Djide, N. J. N., & Asri, R. M. (2019). SKRINING POTENSI PROBIOTIK DAN SITOTOKSIK BAKTERI Weisella confusa ISOLAT DANGKE SAPI. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 23(2), 58–60. <https://doi.org/10.20956/mff.v23i2.6953>
- El-Tarabily, K. A., & Sivasithamparam, K. (2006). Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycoscience*, 47(1), 25–35. <https://doi.org/10.1007/s10267-005-0268-2>
- El-Ziney, M. G., Zaid, E. A. A., & El-Naggar, M. Y. (2018). Characterization of carotenogenic rhodotorula strains isolated from delta region, Egypt and their potential for carotenoids production. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 587–599. <https://doi.org/10.22207/JPaM.12.2.17>
- Fadhli, H., & Kusdiyantini, Endang, N. (2019). Karakterisasi morfologi , biokimia , dan uji enzimatis isolat khamir buah apel (*Malus domestica* Borkh .) yang berpotensi menghasilkan bioetanol Morphological , biochemical and enzymatic characterization of yeast isolates from apple. *Biologi Tropika*, 2(2), 62–73.
- Freire, A. L., Ramos, C. L., Souza, P. N. D. C., Cardoso, M. G. B., & Schwan, R. F. (2017). Nondairy Beverage Produced by Controlled Fermentation with Potential Probiotic Starter Cultures of Lactic Acid Bacteria and Yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 39–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.011>
- Fialho, M. B., de Andrade, A., Bonatto, J. M. C., Salvato, F., Labate, C. A., & Pascholati, S. F. (2016). Proteomic response of the phytopathogen *Phyllosticta citricarpa* to antimicrobial volatile organic compounds from *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Research*, 183, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.002>
- Gadanho, M., & Sampaio, J. P. (2002). Polyphasic taxonomy of the basidiomycetous yeast genus Rhodotorula: Rh. glutinis sensu stricto and Rh. dairenensis comb. nov. *FEMS Yeast Research*, 2(1), 47–58. [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(01\)00062-9](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(01)00062-9)
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Elías Iglesias, A., Peréz-Sánchez, T., Salabarría, R. B., & Halaihel, N. (2012). Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 798–802. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.09.005>
- Ghazali, M., Zaki, M., & Hidayati, E. (2021). Antibacterial Activity of Methanol Extract of *Sargassum polycystum* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 199-205.
- González-Esparza, A., Gentina, J. C., Ah-Hen, K. S., Alvarado, R., Stevenson, J., Briceño, E., & Montenegro, O. (2019). Survival of spray-dried Rhodotorula mucilaginosa isolated from natural microbiota of murta berries and antagonistic effect on Botrytis

- cinerea. *Food Technology and Biotechnology*, 57(2), 222–229. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.6139>
- Hafsari, A. R., Oetari, A., Salamah, A., & Sjamsuridzal, W. (2011). Pengujian kemampuan antagonistik khamir Rhodotorula spp. asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi dengan Co-Culture. *J. Istek*, 5(1–2), 149–160.
- Irazusta, V., Estévez, C., Amoroso, M. J., & De Figueroa, L. I. C. (2012). Proteomic study of the yeast Rhodotorula mucilaginosa RCL-11 under copper stress. *BioMetals*, 25(3), 517–527. <https://doi.org/10.1007/s10534-012-9531-0>
- Jarros, I. C., Veiga, F. F., Corrêa, J. L., Esteves, I. L., Vicente, V. A., Negri, M., Inez, T., & Svidzinski, E. (2020). Original article : MICROBIOLOGICAL AND VIRULENCE ASPECTS OF. 687–704.
- Jaziri, A. A., Sukoso, M., & Firdaus, M. (2017). Karakteristik Protease Dari Ekstrak Kasar Khamir Laut Dan Aktivitasnya Dalam Menghidrolisis Protein Ikan Rucah. *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*, 1(2), 78–87. <http://jfmr.ub.ac.id/index.php/jfmr/article/view/39/23>
- Jumiyati, H.i Bintari, I. M. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi Di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 4(1). <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v4i1.2265>
- Kumar, M., Nagpal, R., Kumar, R., Hemalatha, R., Verma, V., Kumar, A., Chakraborty, C., Singh, B., Marotta, F., Jain, S., & Yadav, H. (2012). Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Experimental Diabetes Research*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/902917>
- Rame. (2014). P Enggunaan K Hamir R Hodotorula Mucilaginosa Untuk B Iosensor. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 5(2), 37–44.
- Rizal, S., Erna, M., Nurainy, F., & Tambunan, A. R. (2016). Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(01), 63–71. <https://doi.org/10.14203/jkti.v18i01.41>
- Salgado, V., Fonseca, C., Lopes da Silva, T., Roseiro, J. C., & Eusébio, A. (2020). Isolation and Identification of Magnusiomyces capitatus as a Lipase-Producing Yeast from Olive Mill Wastewater. *Waste and Biomass Valorization*, 11(7), 3207–3221. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00725-7>
- Salihu, A., Alam, M. Z., AbdulKarim, M. I., & Salleh, H. M. (2012). Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. *Resources, Conservation and Recycling*, 58, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.10.007>
- Yu, P., Wang, X. T., & Liu, J. W. (2015). Purification and characterization of a novel cold-adapted phytase from Rhodotorula mucilaginosa strain JMUY14 isolated from Antarctic. *Journal of Basic Microbiology*, 55(8), 1029–1039. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400865>
- Zhao, Y., Guo, L., Xia, Y., Zhuang, X., & Chu, W. (2019). Isolation, identification of carotenoid-producing Rhodotorula sp. From marine environment and optimization for carotenoid production. *Marine Drugs*, 17(3). <https://doi.org/10.3390/md17030161>

