

Efek Kadar Air Substrat dan Dosis Inokulum Terhadap Perubahan Komposisi Kimiawi Rumput Kume (*Sorghum plumosum* var. Timorensis) Hasil Biokonversi Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). (Effects of Substrate Moisture and Doses of *Pleurotus ostreatus* Inoculant on The Changing of Chemical Content of Bioconverted “Kume” Grass (*Sorghum Plumosum* var. Timorensis))

Ana Rochana Tarmidi¹ dan Stefanus Ghunu²

- 1) Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran
- 2) Jurusan Peternakan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang

Abstrak

Penelitian ini mengkaji efek kadar air substrat dan dosis inokulum jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap perubahan komposisi kimiawi rumput Kume (*Sorghum plumosum* var. Timorensis) hasil biokonversi (RKHB), telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ternak Politani Kupang. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 4x4 dengan ulangan 3 kali. Faktor pertama adalah kadar air substrat (A) terdiri atas 4 level yaitu A₁ = 62,50; A₂ = 70,00; A₃ = 77,50; dan A₄ = 85,00 % dari total berat substrat. Faktor kedua adalah dosis inokulum jamur tiram putih (D), yang terdiri atas 4 level yaitu D₁ = 10 g, D₂ = 15 g, D₃ = 20 g, dan D₄ = 25 g kg⁻¹ substrat. Peubah yang diukur meliputi perubahan komposisi kimiawi (bahan kering [BK], bahan organik [BO], protein kasar, serat kasar [SK]) produk biokonversi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biokonversi dapat meningkatkan kualitas rumput Kume kering, ditandai dengan meningkatnya kandungan protein kasar dan menurunnya kandungan BK, BO, dan serat kasar. Peningkatan terbaik dan efisien adalah kadar air substrat 77,5% dan dosis inokulum 20g kg⁻¹ substrat.

Kata kunci : Rumput Kume, Jamur Tiram Putih, biokonversi, Kadar Air, Dosis Inokulum.

Abstract

This research was carried out to study the effects of substrate moisture and dose of *Pleurotus ostreatus* inoculant on the changing of chemical content of bioconverted “Kume” grass (*Sorghum plumosum* var Timorensis). It was conducted at the “Biotech and Animal Feed and Nutrition Laboratory” of Agricultural Polytechnic (Politani) Kupang. A Completely Randomized Design arranged factorially (4x4) with 3 replications. The first factor, substrate moisture (A), composed of 4 level: A₁= 62.50, A₂= 70.00, A₃= 77.50, and A₄= 85.00% of substrate total weight. The second one, dose of *Pleurotus ostreatus* inoculant (D), composed of 4 levels: D₁ = 10g, D₂ = 15g, D₃ = 20g, and D₄ = 25g kg⁻¹ substrate. Variables observed were chemical content change (dry matter [DM], organic matter [OM], crude protein [CP], crude fibre [CF]). This results indicated that bioconversion of dry “Kume” grass which have increased of CP and decreased of DM, OM, and CF contents. The best increasing and efficient bioconversion were obtained at 77.50% substrate moisture and inoculant dose of 20g kg⁻¹ substrate.

Key words : “Kume” grass, (*Pleurotus ostreatus*), , Substrate moisture, Inoculant doses.

Pendahuluan

Rumput “Kume” kering (*Sorghum plumosum* var. Timorensis) merupakan hijauan pakan lokal daerah NTT yang pemanfaatannya belum optimal, namun pada sisi lain mempunyai potensi untuk digunakan sebagai salah satu sumber bahan pakan berserat, karena kandungan karbohidrat strukturalnya tinggi sebagai sumber

energi bagi ternak ruminansia. Namun demikian, sampai saat ini rumput Kume hanya terbatas dikenal sebagai pakan berserat tinggi yang ditandai dengan adanya ikatan lignoselulosa dan lignohemiselulosa, sedangkan kadar protein kasarnya rendah. Apabila digunakan sebagai pakan, maka perlu ditingkatkan dengan sentuhan bioteknologi.

Salah satu upayanya adalah melalui teknologi biokonversi. Teknologi ini bertujuan untuk membantu mikroba rumen mendegradasi karbohidrat struktural yang terikat sebagai lignoselulosa sebelum diberikan pada ternak. Apabila karbohidrat tersebut dapat didegradasi menjadi karbohidrat yang lebih sederhana, maka rumput Kume dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi ternak. Salah satu aplikasi bioteknologi dalam penelitian ini adalah biokonversi dengan menggunakan jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*). Aplikasi teknologi biokonversi ini lebih menguntungkan karena selain dapat meningkatkan nilai gizi, juga tidak berbahaya, tidak menimbulkan polusi dan biaya relatif murah. Jamur tiram putih sebagai jamur penghasil enzim fenol oksidase (lakase, peroksidase, dan tirosinase) mampu mendegradasi lignoselulosa dan lignohemiselulosa. Proses biokonversi tidak saja menurunkan kadar fraksi serat atau kandungan unsur-unsur karbohidrat struktural, tetapi juga meningkatkan kadar protein (miselium jamur sebagai sumber nitrogen), juga selulosa dan hemiselulosa yang didegradasi menjadi tersedia. Pengolahan rumput Kume melalui proses biokonversi akan menghasilkan pakan yang berkualitas baik.

Inokulum jamur tiram putih sebagai kultur pemula (starter) yang diinokulasikan dalam substrat biokonversi pada saat kultur mikroba berada pada fase pertumbuhan eksponensial. Dosis inokulum jamur tiram putih pada biokonversi substrat padat sangat bervariasi dari 0,5-20% dari total berat bahan fermentasi (Wijono dkk., 1988). Hal ini berkaitan dengan aktivitas enzim yang dihasilkan jamur dan kadar air substrat. Kadar air substrat merupakan faktor penting sebagai sumber hidrogen, oksigen, juga berperan dalam translokasi nutrisi (Moore dan Ladecker, 1996). Selanjutnya Fegg dan Wood (1985) melaporkan bahwa kadar air substrat untuk pertumbuhan miselium jamur yang optimal adalah 55-70%.

Beberapa kajian telah dilakukan untuk mengungkap potensi dari rumput Kume kering lokal ini, diantaranya Dami Dato (1998); Dami Dato dan Ghunu (2000); dan Ghunu (2001) menghidrolisis rumput Kume kering dengan menggunakan alkali alamiah filtrat abu sekam padi (FASP), urea yang diseimbangkan dengan enzim urease kacang kedelai dapat meningkatkan kandungan nutrisi dan pencernaan *in vitro*. Selanjutnya kajian Kountul dkk. (2000); Marunduri dan Dami Dato (2001); Dami Dato dan Ghunu (2002), menjelaskan bahwa hasil hidrolisis rumput Kume kering dengan FASP, urea dan urease telah terjadi penurunan kandungan dan

peningkatan pencernaan *in vitro* komposisi kimiawi dan komponen serat rumput Kume hasil hidrolisis.

Metode

Rumput Kume kering, yang diperoleh di sekitar kota Kupang yang telah di chopper ukuran \pm 3-5 cm. Inokulum jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) American Type Culture Collection (ATCC 32783), diperoleh dari laboratorium Mikologi PAU Ilmu Hayati ITB Bandung. Bahan aditif terdiri dari 10% dedak (sebagai sumber karbon dan nitrogen); 0,5% CaCO₃ (sebagai sumber kalsium dan pengatur pH substrat agar tetap berkisar 5,1-7,0) 1,5% gypsum (CaSO₄.2H₂O) [sebagai sumber kalsium dan untuk memperkokoh media]; dan 0,5% pupuk NPK (sebagai sumber mineral dan nitrogen untuk pertumbuhan miselium jamur). Kadar Air substrat sesuai level perlakuan 62,50; 70; 77,50 dan 85,00% untuk membasahi substrat sehingga tercipta kondisi kadar air substrat yang diperlakukan untuk pertumbuhan miselia jamur dan sebagai bahan pelarut zat-zat makanan.

Prosedur Kerja Biokonversi Rumput Kume Kering

- (1). Rumput Kume kering dicacah ukuran \pm 3-5 cm, ditimbang masing-masing seberat 10 kg untuk setiap perlakuan, kemudian ditambahkan aditif (untuk pertumbuhan jamur) dengan imbangannya dan air bersih untuk memperoleh kadar air substrat sesuai level perlakuan (62,50; 70,00; 77,50; dan 85,00%). Penambahan air dilakukan dengan cara dipercik sambil dicampur secara manual hingga terjadi penyerapan air ke dalam substrat secara merata.
- (2). Substrat dimasukan ke dalam kantong plastik polipropilen ukuran 35x20 cm tebal 0,6 mm (masing-masing 1 kg) dan ketebalan 20 cm. Mulut kantong plastik dimasukan ke dalam lubang cincin paralon dan dilipat keluar. Setelah itu diikat dengan karet gelang dan ditutup kapas.
- (3). Substrat disterilisasi dalam autoklaf selama satu jam, suhu 121°C pada tekanan 1 atmosfer (atm). Manfaat sterilisasi adalah untuk (a) meminimiliasi masuknya kontamin dalam proses atau keluarnya mikroorganisme yang diperlukan; dan (b) untuk mengubah sifat fisiko kimianya sehingga dapat meningkatkan kerentanan substrat terhadap serangan mikroba. Substrat yang telah disterilisasi didinginkan selama 12 jam dalam autoklaf.
- (4). Substrat dengan kadar air (62,50; 70,00; 77,50 dan 85,00%) yang berbeda diinokulasi

- dengan dosis inokulum jamur tiram putih 10, 15, 20, dan 25g kg⁻¹ substrat.
- (5). Substrat diinkubasi dalam ruang inkubator yang didesain khusus dalam keadaan steril, suhunya diusahakan tetap konstan yaitu 20°C dan kelembaban 80-90%, serta lama inkubasi 40 hari (Santosa, 1996; Ghunu, 1998) yakni sampai miselium tumbuh menutupi seluruh permukaan baglog.
 - (6). Substrat hasil biokonversi (RKHB) ditimbang beratnya untuk mengetahui tingkat perubahan beratnya selama proses biokonversi berlangsung kemudian dikeluarkan dari baglog.
 - (7). Dari setiap substrat hasil biokonversi dicampur secara merata, diambil sampel masing-masing baglog 200 g dikeringkan dalam oven selama 48 jam pada suhu 60°C, kemudian sampel digiling halus yang selanjutnya digunakan untuk analisis komposisi kimiawi (metode proksimat Weende).

Percobaan biokonversi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 4x4 dengan ulangan 3 kali. Sebagai faktor pertama adalah kadar air substrat (A) terdiri atas 4 level yaitu A₁ = 62,50; A₂ = 70,00; A₃ = 77,50; dan A₄ = 85,00 % dari total berat substrat dan faktor kedua adalah dosis inokulum jamur tiram putih (D), yang terdiri atas 4 level yaitu D₁ = 10 g, D₂ = 15 g, D₃ = 20 g, dan D₄ = 25 g kg⁻¹. Data dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA dan uji Jarak Berganda Duncan (Gasperz, 1991).

Perubahan yang diamati, perubahan komposisi kimiawi (BK, BO, protein kasar, serat kasar), diperoleh melalui analisis proksimat metode Weende (AOAC, 1990). Untuk menentukan perubahan (peningkatan atau penurunan) komposisi kimiawi dihitung berdasarkan rumus yang diformulasikan Tripathi dan Yadav (1992) sebagai berikut :

$$\text{Peningkatan/Penurunan Nutrien (\%)} = \frac{K_2 - K_1}{K_1} \times 100\%$$

Keterangan			
Nutrien	BK, BO, protein kasar, serat kasar		
K ₁	Kadar nutrien rumput Kume tanpa biokonversi (RKTb)		
K ₂	Kadar nutrien rumput Kume hasil biokonversi (RKHB)		

Hasil dan Pembahasan

Penggunaan berbagai level kadar air substrat dan dosis inokulum jamur tiram putih untuk

biokonversi rumput Kume kering mengakibatkan terjadi perubahan komposisi kimiawi, disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan Kandungan Kimiawi (BK, BO, Protein Kasar, Serat Kasar) RKHB Pada Berbagai Level Kadar Air Substrat dan Dosis Inokulum Jamur Tiram Putih.

Perlakuan	Variabel Respon			
	Bahan Kering	Bahan organik	Protein Kasar	Serat Kasar
Kadar Air Substrat				
62,5%	-9,15 ^a	-10,51 ^c	37,65 ^a	-11,04 ^a
70,0%	-15,87 ^b	-18,19 ^b	44,59 ^b	-16,07 ^b
77,5%	-19,83 ^c	-23,38 ^c	62,37 ^c	-27,46 ^c
85,0%	-21,61 ^c	-25,17 ^c	61,96 ^c	-26,36 ^c
Dosis Inokulum				
10g	-14,71 ^a	-16,35 ^a	36,08 ^a	-16,62 ^a
15g	-16,11 ^{ab}	-18,13 ^a	49,61 ^b	-19,77 ^b
20g	-17,10 ^{bc}	-20,52 ^b	60,48 ^c	-21,85 ^c
25g	-18,55 ^c	-22,26 ^b	60,40 ^c	-22,70 ^c

Keterangan : (-) = Penurunan, (tanpa tanda) = Peningkatan

Data menunjukkan bahwa semakin meningkat level kadar air substrat dari 62,5 hingga 85,0% semakin meningkat pula persentase penurunan kandungan BK dan BO RKHB, sedangkan untuk persentase peningkatan kandungan protein kasar dan penurunan kandungan SK tertinggi hingga level 77,5%. Pada level 85,0% persentase peningkatan kandungan protein dan penurunan kandungan SK kembali menurun tetapi masih berada jauh di atas level 70,0%.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa interaksi antara perlakuan kadar air substrat dan dosis inokulum tidak memberikan pengaruh yang nyata (P>0,05) terhadap semua variabel respon, tetapi kedua perlakuan tersebut masing-masing secara mandiri memberikan pengaruh yang nyata (P<0,05) menurunkan kandungan BK, BO, serat kasar dan meningkatkan kandungan protein kasar.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa persentase penurunan kandungan BK dan BO RKHB pada kadar air 85,0% adalah tertinggi dan nyata (P<0,05) lebih tinggi dibanding kadar air 70,0 maupun 62,5%, terhadap kadar air 77,5% tidak nyata (P>0,05). Kadar air 77,5% nyata (P<0,05) lebih tinggi dibanding level 70,0 maupun 62,5%. Kadar air 70,0% juga nyata (P<0,05) lebih tinggi dibanding 62,5%. Persentase peningkatan kandungan protein kasar dan penurunan kandungan SK pada level 77,5% adalah tertinggi tetapi tidak nyata (P>0,05) dibanding level 85,0%. Kadar air 85,0% nyata (P<0,05) lebih tinggi

dibanding level 70,0 dan 62,5% maupun antara level 70,0% dan 62,5% nyata ($P < 0,05$) tingginya.

Data Tabel 1 memperlihatkan bahwa umumnya semua variabel respon pada level kadar air 62,5% maupun dosis inokulum 10g tampak mulai terjadi degradasi substrat oleh jamur tiram putih yang dimanifestasikan dengan mulai menurunnya kandungan BK dan BO hingga kadar air substrat 85,0% dan dosis inokulum 25g. Sedangkan untuk persentase peningkatan kandungan protein kasar dan penurunan kandungan SK juga sudah terjadi pada kadar air 62,5% dan dosis inokulum 10g hingga kadar air 77,5% dan dosis inokulum 20g. Setelah level kadar air dan dosis inokulum tersebut, persentase peningkatan protein kasar dan penurunan SK kembali menurun. Dari fenomena ini, dapat dikatakan bahwa level kadar air substrat 77,5% maupun dosis inokulum 20g kg^{-1} substrat telah memberikan tingkat perubahan yang berarti meminimalisasi antinutrisi serat (lignoselulosa) dan meningkatkan kandungan protein kasar dalam rumput Kume kering.

Penurunan kandungan nutrisi secara umum disebabkan terjadi degradasi yang maksimal terhadap komponen-komponen lainnya di dalam substrat sejak awal inkubasi hingga satuan waktu tertentu (20 hari), dimana miselium telah selesai menembus substrat (Zadrazil dan Kurtzman Jr., 1984). Pada penelitian ini masa inkubasi optimum sampai tertutupnya substrat oleh miselium adalah 40 hari inkubasi. Sementara Hadar *et al.* (1993) mengemukakan bahwa terjadi penurunan nutrisi terutama BO dan SK pada jerami gandum yang difermentasi oleh *Pleurotus ostreatus* dan penurunan BO tertinggi sebesar 20% dalam waktu fermentasi 30 hari. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibanding penelitian Hadar *et al.* (1993) tersebut. Perbedaan ini sebagai akibat dari perbedaan jenis substrat dan lama inkubasi.

Manifestasi dari pertumbuhan jamur tiram putih dalam media substrat rumput Kume menghasilkan miselium yang kaya akan protein sehingga kandungan protein kasar menjadi meningkat. Hal ini karena pembentukan protein mencapai puncaknya pada saat pembentukan miselium selesai (Santosa, 1996). Semakin tinggi dosis inokulum menyebabkan lebih banyaknya miselium terbentuk, disertai dengan meningkatnya nitrogen total secara proporsional karena terdegradasinya komponen serat (Nicolini *et al.*, 1987), sebaliknya BO menurun. Peningkatan dosis inokulum berpengaruh positif terhadap kepadatan populasi jamur tiram putih, pada gilirannya juga terhadap produksi enzim untuk menguraikan

substrat menjadi pembentuk-pembentuk protein. Dosis inokulum tertinggi dan efisien pada penelitian ini adalah 20g kg^{-1} substrat dan kadar air 77,5%. Dosis inokulum yang lebih tinggi akan menyebabkan terbentuknya miselium yang lebih banyak, karena adanya enzim pepton dan asparagin yang diproduksi jamur tiram putih. Enzim ini berperan menunjang tersedianya sumber nitrogen untuk pertumbuhan miselium (Wang, 1984; Zadrazil dan Kurtzman Jr., 1984).

Kesimpulan

Biokonversi dengan jamur tiram putih pada level kadar air substrat tertentu dapat meningkatkan kualitas rumput Kume kering, ditandai dengan meningkatnya kandungan protein kasar dan menurunnya kandungan BK, BO, dan serat kasar. Peningkatan terbaik dan efisien adalah kadar air substrat 77,5% dan dosis inokulum 20g kg^{-1} substrat. Hasil penelitian ini dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam pembuatan produk biokonversi rumput Kume dengan mengacu pada kadar air dan dosis inokulum yang direkomendasikan dari penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan terapan (P2IPT) program Hibah Bersaing, DP4M Ditjen Dikti, Depdiknas Tahun Anggaran 2006 atas persetujuan dana untuk penelitian ini.

Daftar Pustaka

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 12th Edition. Benjamin Franklin, Washington, D.C.
- Dami Dato, T. O. 1998. Pengolahan Rumput *Sorghum plumosum* var. Timorensis Kering Dengan Filtrat Abu Sekam Padi (FASP) Terhadap Perubahan Komponen Serat dan Kecernaannya Secara *in vitro*. Tesis. Program Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Dami Dato, T. O. dan S. Ghunu. 2000. Kandungan Komponen Serat, Kecernaan *in vitro* dan Nilai TDN Rumput "Kume" (*Sorghum plumosum* var. Timorensis) Kering Hasil Hidrolisis Filtrat Abu Sekam Padi (FASP) Sebagai Sumber Alkali Alamiah. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Dami Dato, T. O. dan S. Ghunu. 2002. Kecernaan *in vitro* Fraksi Serat Rumput Kume Hidrolisis Filtrat Abu Sekam Padi (FASP), Urea, dan Sumber Urease Eksogen. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

- Flegg, P.B and Wood, D.A. 1985. Growth and Fruiting. **In:** The Biology and Technology Of The Cultivated Mushroom.
- Gasperz, V. 1991. Teknis Analisis Dalam Penelitian Percobaan. Edisi Pertama. Penerbit Tarsito, Bandung.
- Ghunu, S. 1998. Efek Dosis Inokulum dan Lama Biokonversi Ampas Tebu Sebagai Bahan Pakan oleh Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap Kandungan Komponen Serat, Protein Kasar, dan Energi Dapat Dicerna Pada Domba. Tesis. Program Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Ghunu, S. 2001. Potensi Komponen Serat Rumpuk Kume Kering Hasil Hidrolisis Filtrat Abu Sekam Padi (FASP), Urea, dan Sumber Urease dari Kacang Kedelai Dilihat dari Kandungan dan Kecernaan *in vitro*. Laporan Penelitian. Politeknik Pertanian, Kupang.
- Hadar, Y., Z. Kerem, and B. Gorodecki. 1993. Biodegradation of Lignocellulosic Agricultural Wastes by *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Biotechnology*, 30: 133-139.
- Kountul, S. A., T. O. Dami Dato, dan S. Ghunu. 2000. Uji Manfaat Rumpuk "Kume" (*Sorghum plumosum* var. Timorense) Hasil Hidrolisis Filtrat Abu Sekam Padi (FASP) yang Diperkaya Dengan Urea dan Sumber Urease Pada Ternak Kambing Lokal. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Marunduri, F. C., dan T. O. Dami Dato. 2001. Nilai Gizi Rumpuk "Kume" Kering Hasil Hidrolisis Filtrat Abu Sekam Padi (FASP), Urea, dan Sumber Urease Asal Kacang Kedelai. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Moore, E., and Landecker, 1996. Fundamentals of The Fungi. Prenite. Hall, Inc. New Jersey.
- Nicolini, L., C. Von Hunolstein, and A. Carilli. 1987. Solid State Fermentation of Orange Peel dan Grape Stalks by *Pleurotus ostreatus*, *Agrocybe aegerita* and *Armillariella mellea*. *Appl. Microbiology Biotechnology*, 26: 95-98.
- Santosa, U. 1996. Efek Jerami Padi yang Difermentasi oleh Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap Penggemukan Sapi Jantan Peranakan Ongole. Disertasi. Program Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Tripathi, J. P., and J. S. Yadav. 1992. Optimization of Solid Substrate Fermentation of Wheat Straw Into Animal Feed by *Pleurotus ostreatus*: A Pilot Effort. **In:** Blair, R., and P. J. Van Soest (Editors). *Journal of Animal Feed Science Technology* 37: 59-72.
- Wang, C. W. 1984. Cellulolytic Enzymes of *Volvariella volvacea*. **In:** Chang, S. T., and T. H. Quimio (Editors). Tropical Mushrooms. Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press, Hongkong. p. 167-187.
- Wijono, D.B., B. Sarjono., Haryono, dan D. Wibowo. 1988. Prinsip-prinsip Teknologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Zadrazil, F., and R. H. Kurtzman Jr., 1984. The Biology of *Pleurotus* Cultivation in The Tropics. **In:** Chang, S. T., and T. H. Quimio (Editors). Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press, Hongkong. p. 277-296.