



Ekstrak Kulit Kayu Pidada (*Sonneratia caseolaris*) Sebagai Alternatif Potensial Sanitizer Pengganti Klorin

Kristina Novalina Nainggolan^{1*}, Yudha Perdana Putra^{1*}

¹ Prodi Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Politeknik Negeri Pontianak, Pontianak – Indonesia

*Correspondence email: *Kristina Novalina Nainggolan*
✉ sandy.novalin@yahoo.com
Yudha Perdana Putra
✉ yudhaperdanaputra@gmail.com

Received: 25 May 2018- Accepted: 29 June 2018

Published: 29 June 2018 © Author(s) 2018. This article is open access

Abstract: Klorin merupakan jenis *sanitizer* yang umum digunakan di Unit Pengolahan Ikan (UPI) termasuk pengolahan udang, namun potensi efek negatif dari klorin yang mungkin ditimbulkan bagi kesehatan manusia membuat pencarian alternatif *sanitizer* bagi industri pengolahan pangan perlu dilakukan. Salah satu alternatif *sanitizer* pengganti klorin yang potensial dari sumber daya kelautan Kalimantan Barat adalah ekstrak tanaman mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis penggunaan ekstrak Pidada sebagai *sanitizer* pengganti klorin serta mengetahui pengaruh aplikasi ekstrak Pidada sebagai *sanitizer* dalam menurunkan level kontaminasi mikroba pada udang segar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental yang meliputi ekstraksi kulit kayu Pidada dengan metanol dan pengujian efektivitas ekstrak pidada dalam menurunkan kontaminasi mikroba pada udang segar menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak solid kulit kayu pidada sebesar 0,62%. Efektivitas penurunan kontaminasi mikroba pada udang segar terbaik ditunjukkan oleh pencucian dengan menggunakan larutan ekstrak kulit kayu Pidada dengan konsentrasi 100 ppm yaitu sebesar 77%. Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa ekstrak kulit kayu Pidada berpotensi untuk dikembangkan sebagai *sanitizer* untuk unit pengolahan udang maupun ikan.

Keywords: *pidada, sanitizer, klorin, antibakteri.*

1. Pendahuluan

Udang merupakan salah satu komoditas ekspor perikanan Indonesia yang diunggulkan. Nilai ekspor udang yang mencapai 33,10% dengan volume ekspor sebesar 11,15% membuatnya berada pada peringkat kedua sebagai komoditas ekspor unggulan di sektor perikanan setelah kelompok TTC (tuna, tongkol,

cakalang) (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013). Nilai ekspor udang tersebut bahkan terus mengalami peningkatan ditahun-tahun selanjutnya, dengan Amerika Serikat sebagai pangsa pasar tujuan ekspor utama dan disusul oleh Jepang. Hanya saja data statistik menunjukkan nilai ekspor udang ke negara-negara Uni Eropa masih cukup rendah dibanding negara tujuan

lainnya, dengan trend yang berfluktuatif bahkan cenderung menurun (Badan Pusat Statistik, 2017), padahal Uni Eropa merupakan salah satu pangsa pasar potensial bagi produk udang Indonesia. Rendahnya nilai ekspor udang Indonesia ke negara-negara Uni Eropa diduga terkait ketatnya penetapan persyaratan mutu dan keamanan pangan yang diterapkan di wilayah tersebut. Salah satu persyaratan yang disepakati bersama oleh negara Uni Eropa adalah penggunaan *sanitizer* yang aman untuk produk pangan, termasuk untuk produk udang impor yang masuk ke negara-negara di Uni Eropa.

Penggunaan *Sanitizer* bertujuan untuk membunuh sejumlah besar mikroorganisme patogen pada bahan pangan hingga pada tingkatan yang dianggap aman bagi kesehatan manusia. *Sanitizer* setidaknya harus mampu mengurangi tingkat kontaminasi bakteri tertentu sebanyak 99,9% (Parker, 2007; Gaulin, *et al.*, 2011). Salah satu jenis *sanitizer* yang cukup sering digunakan di Unit Pengolahan Ikan (UPI) adalah Klorin. Hal ini terkait beberapa kelebihan dari klorin, diantaranya: harganya relatif murah, mudah diperoleh, dan cukup efektif membunuh bakteri gram positif maupun negatif (Duong, 2005; Gaulin, *et al.*, 2011). Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa residu klorin berpotensi memberi pengaruh buruk bagi tubuh manusia, seperti resiko kanker kandung kemih dan rektum (Morris, *et al.*, 1992); gangguan pada arteri, melanoma, dan timbulnya gejala alergi (Hattersley, 2000); serta pembentukan methemoglobin atau methemoglobinemia (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2015).

Terkait hal tersebut, beberapa institusi yang berperan dalam pengawasan produk pangan mengeluarkan ketetapan mengenai penggunaan klorin sebagai bahan desinfeksi produk pangan. Diantaranya, tidak diperbolehkannya penggunaan klorin sebagai bahan desinfeksi pada produk pangan yang beredar di negara-negara Uni Eropa (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2015). Di Amerika Serikat, penggunaan klorin sebagai bahan desinfeksi bagi peralatan pengolahan pangan diperbolehkan, hanya saja konsentrasi maksimal penggunaannya diatur supaya tidak memberikan efek residu berlebih (Northeast Organic Farming Association of New York, 2015; U.S. Food and Drug Administration, 2016). Untuk itu perlu dilakukan studi untuk

mencari *sanitizer* alternatif pengganti klorin. *Sanitizer* yang diinginkan adalah yang berasal dari bahan yang aman untuk digunakan pada produk pangan (food grade) dengan efektifitas desinfeksi yang cukup tinggi terhadap mikroba patogen. Salah satu sumber daya kelautan Kalimantan Barat yang potensial untuk dikembangkan sebagai *sanitizer* alternatif berbahan alami adalah ekstrak tanaman mangrove.

Tanaman mangrove, terutama anggota Genus *Sonneratia* telah dilaporkan mengandung senyawa bioaktif yang bersifat antimikroba. Penelitian ini telah dilakukan diantaranya terhadap ekstrak kulit kayu, daun dan ranting dari *Sonneratia caseolaris* (Simlai *et al.*, 2014; Avenido *et al.*, 2012), ekstrak daun *Sonneratia alba* (Sahoo *et al.*, 2012), serta ekstrak daun dan bagian lainnya dari *Sonneratia apetala* (Jaimini *et al.*, 2011; Bobbarala *et al.*, 2009). Selama ini penelitian tersebut masih berfokus pada *screening* potensi anti-bakteri dan anti-fungi pada ekstrak yang dihasilkan dari tanaman-tanaman tersebut. Lebih lanjut, potensi penggunaan ekstrak tersebut sebagai alternatif *sanitizer* untuk industri pangan, khususnya untuk kegiatan pengolahan udang, belum dilakukan. Terkait ketersediaan mangrove yang cukup melimpah di wilayah Kalimantan Barat, khususnya mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*), serta potensi antimikroba dari tanaman tersebut, maka perlu dilakukan penelitian terhadap potensi ekstrak Pidada sebagai *sanitizer* alternatif untuk industri pengolahan ikan, dalam hal ini khususnya untuk produk udang. Dengan demikian tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis penggunaan ekstrak Pidada sebagai *sanitizer* pengganti klorin serta mengetahui pengaruh aplikasi ekstrak Pidada sebagai *sanitizer* dalam menurunkan level kontaminasi mikroba pada udang segar.

2. Metode

Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahapan yaitu ekstraksi kulit Pidada (*Sonneratia caseolaris*) dengan metanol, dan aplikasi ekstrak Pidada sebagai *sanitizer* pada udang segar. Bahan baku yang digunakan adalah kulit kayu dari batang dan ranting Pidada. Sampel dikoleksi dalam keadaan basah dan diperoleh dari wilayah estuari di Kabupaten Kubu Raya dan Kabupaten Mempawah Provinsi Kalimantan Barat.

Prosedur ekstraksi kulit pidada dilakukan berdasarkan metode Avenido *et al.* (2014) dengan beberapa modifikasi. Kulit kayu Pidada dibersihkan menggunakan air terdistilasi, lalu dikeringkan di tempat teduh selama 2 minggu (14 hari). Sampel tersebut kemudian ditimbang dan dihaluskan menggunakan *grinder*. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan merendam bubuk kulit Pidada dalam larutan metanol dengan perbandingan 1:2 (w/v). Perendaman pada suhu kamar disertai pengadukan selama 48 jam. Larutan ekstrak tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C pada kecepatan 90 rpm. Filtrat kemudian dibekukan untuk kemudian dihilangkan airnya melalui *freeze drying* selama 48 jam. Bubuk ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk dihitung rendemennya, lalu disimpan di wadah kedap.

Aplikasi dan pengujian aktifitas desinfeksi dilakukan terhadap sampel udang segar dalam bentuk *Peeled Deveined Tail-On* (PDTO). Udang segar. Sampel udang tersebut dicuci dengan air bersih terlebih dahulu dan ditiriskan sebentar untuk kemudian direndam dalam larutan. Larutan *sanitizer* yang digunakan terdiri dari 2 kontrol negatif (tidak dicuci dan Akuades), 2 kontrol positif (klorin konsentrasi 5 dan 10

ppm) serta 5 perlakuan ekstrak pidada dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Pencucian dengan larutan *sanitizer* dilakukan masing-masing selama 1 menit. Efektivitas penurunan level kontaminasi mikroba diuji dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) mengacu pada SNI 01-2332.3-2006.

3. Hasil dan Pembahasan

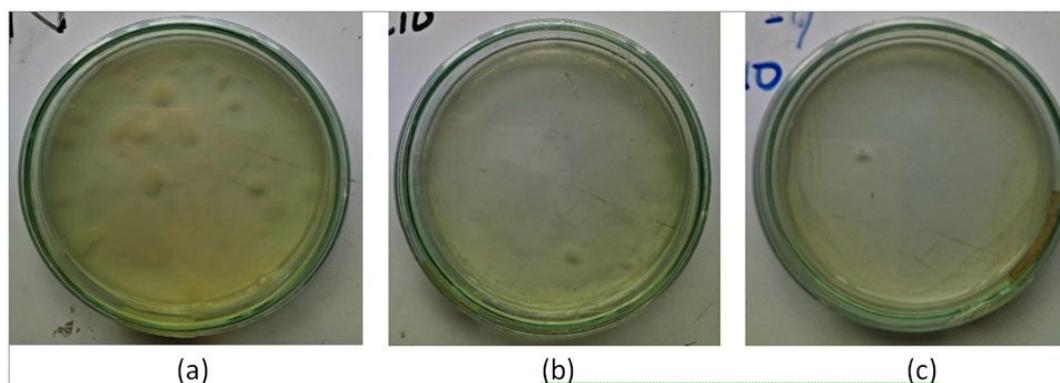
3.1 Hasil

Proses ekstraksi dilakukan terhadap bahan baku kulit kayu pidada dalam keadaan basah sebanyak 2000 g menghasilkan produk akhir berupa *crude* ekstrak dalam bentuk tepung berwarna merah kecoklatan sebanyak 12,41 g. Dengan demikian rendemen ekstrak kulit kayu Pidada yang diperoleh dari proses ekstraksi dengan pelarut methanol adalah sebesar 0.62%. Rendemen ekstrak kulit kayu Pidada pada setiap tahapan ekstraksi ditampilkan pada Tabel 1.

Pengujian efektivitas penurunan level kontaminasi mikroba pada sampel udang segar menunjukkan hasil bahwa ekstrak kulit kayu Pidada dinilai efektif dalam melakukan aktivitas desinfeksi. Hal ini ditunjukkan oleh respon pertumbuhan koloni mikroba dalam masa inkubasi selama 48 jam. Sampel yang dicuci dengan klorin maupun ekstrak kulit kayu pidada memiliki pertumbuhan koloni yang lebih kecil dibandingkan sampel yang

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Kulit Kayu Pidada Pada Setiap Tahapan Ekstraksi

Tahapan Ekstraksi	Berat (g)	Rendemen (%)
Kulit kayu pidada	2000	100,00
Setelah 14 hari pengeringan di tempat teduh	1050	52,50
Setelah penghalusan dengan grinder	1000	50,00
Ekstraksi dengan methanol	515 (mL)	-
Setelah <i>freeze drying</i>	12,41	0,62



Gambar 1. Koloni mikroba pasca inkubasi: (a) tanpa pencucian; (b) klorin 10 ppm; (c) ekstrak Pidada 100 ppm

Tabel 2. Daya Desinfeksi Larutan Sanitizer Berdasarkan Angka Lempeng Total

Perlakuan Pencucian	Jumlah Koloni koloni/gr (x 10 ⁶)	Daya Desinfeksi (%)
Tanpa pencucian (kontrol negatif)	7,85	-
Akuades	TBUD	0
Ekstrak 20 ppm	4,70	40
Ekstrak 40 ppm	3,06	61
Ekstrak 60 ppm	2,43	69
Ekstrak 80 ppm	2,78	65
Ekstrak 100 ppm	1,78	77
Klorin 5 ppm (kontrol positif)	2,32	70
Klorin 10 ppm (kontrol positif)	0,06	99

tidak dicuci dan yang dicuci dengan akuades. Koloni bakteri di media tumbuh pada kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan terbaik ditampilkan dalam Gambar 1.

Efektivitas penurunan level kontaminasi mikroba pada sampel udang segar menggunakan *sanitizer* ekstrak kulit kayu Pidada secara umum masih lebih rendah dibandingkan efektivitas klorin. Larutan dengan konsentrasi 20-80 ppm menunjukkan daya desinfeksi yang lebih rendah dari klorin 5 ppm yaitu dibawah 70%. Sedangkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm menunjukkan daya desinfeksi yang lebih baik yaitu sebesar 77%. Daya desinfeksi tertinggi diberikan oleh klorin dengan konsentrasi 10 ppm yaitu mencapai 99%. Daya desinfeksi masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

3.2 Pembahasan

Berdasarkan Tabel 1, bila ditinjau lagi rendemen hasil ekstraksi kulit kayu pidada menggunakan metanol setelah tahapan *freeze drying* nilainya sangat kecil, yaitu hanya sekitar 0,62% dari berat bahan baku awal. Hanya yang perlu diingat, berat bahan baku awal tersebut adalah berat kotor, karena kulit kayu pidada yang digunakan belum dicuci dan masih cukup basah (belum mengalami proses pengeringan). Sedangkan perbandingan antara filtrat hasil ekstraksi setelah melewati tahapan evaporasi dengan berat kulit kayu pidada yang relatif cukup kering mencapai 50% (v/w).

Hardjito dan Harijanja (2006), memperoleh rendemen ekstrak yang cukup tinggi dalam penelitiannya menemukan desinfektan pengganti klorin untuk pengolahan udang menggunakan ekstrak Sentigi (*Pemphis acidula*). Rendemen ekstrak Sentigi dengan metanol sebagai ekstraktan mencapai 15,9% dari berat kering bahan baku awal. Namun berat tersebut dihitung setelah proses

evaporasi larutan ekstraktan menggunakan *rotary evaporator*, dan belum melewati tahap *freeze dryer*. Artinya, ekstrak Sentigi yang dihasilkan masih memiliki kandungan air didalamnya. Meskipun memiliki rendemen yang lebih rendah setelah melalui tahapan *freeze drying*, namun ekstrak kering yang dihasilkan memiliki keunggulan dari sisi daya tahan dan kemudahan dalam penyimpanan dan aplikasinya.

Berdasarkan Tabel 2, secara umum dapat dinyatakan bahwa daya desinfeksi ekstrak kulit kayu pidada masih lebih rendah bila dibandingkan dengan klorin. Rendahnya daya desinfeksi ekstrak kulit kayu pidada bila dibandingkan dengan klorin dimungkinkan karena ketidakmurnian senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak kulit kayu pidada. Bila dirunut kembali proses ekstraksi kulit kayu pidada dengan penggunaan methanol sebagai ekstraktan, maka selain senyawa polar ada kemungkinan sebagian kecil senyawa non-polar yang tertarik oleh methanol selama proses ekstraksi. Hal ini terkait nilai indeks polaritas pelarut (*solvent polarity index*) methanol yang berada pada nilai 5.1. Meski cukup tinggi, nilainya masih jauh lebih rendah dibanding dengan air yang berada pada nilai 10,2 (Harris, 2015). Hal ini memungkinkan ekstraktan ini menarik jenis senyawa dengan tingkat kepolaran yang cukup tinggi hingga senyawa yang bersifat agak polar, selama senyawa tersebut masih dapat terlarut dalam methanol.

Lebih lanjut, persyaratan utama sebuah senyawa dapat dikategorikan sebagai *sanitizer* adalah kemampuan senyawa tersebut untuk setidaknya mengurangi tingkat kontaminasi bakteri tertentu sebanyak 99% (3 log) dalam waktu 5 menit pada suhu 200C (Parker, 2007; Gaulin *et al.*, 2011). Dalam hal ini, ekstrak kulit kayu Pidada pada konsentrasi 100 ppm belum mampu men-

capai persyaratan tersebut, namun pada penelitian ini waktu pencucian yang mengandung hanya dilakukan selama 1 menit. Bila waktu kontak pencucian ditingkatkan menjadi 5 menit, ada kemungkinan jumlah mikroba kontaminan pada udang yang dapat didesinfeksi menjadi lebih tinggi.

Bila ditinjau dari kemampuan ekstrak kulit kayu pidada dalam menurunkan level kontaminasi mikroba pada udang segar, maka ekstrak uji tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai *sanitizer* alami. Hanya saja, daya desinfeksi ekstrak kulit kayu pidada masih jauh dibawah klorin, karena dibutuhkan hingga 20 kali konsentrasi klorin (100 ppm ekstrak kulit kayu pidada hampir setara dengan 5 ppm klorin) untuk mendapatkan hasil yang kurang lebih sama bagi ekstrak kulit kayu pidada untuk mereduksi bakteri kontaminan pada udang segar. Bila dibandingkan dengan ekstrak Sentigi, daya desinfeksi ekstrak kulit kayu Pidada masih lebih rendah. Menurut Hardjito dan Harianja (2006), ekstrak Sentigi dengan konsentrasi 50-60 ppm memiliki kemampuan menurunkan tingkat kontaminasi mikroba pada udang segar pada tingkat yang sama dengan klorin 10 ppm. Hal ini kemungkinan karena ekstrak Sentigi yang digunakan memiliki kemurnian senyawa dengan kemampuan antibakteri yang lebih murni karena ekstraksi dilakukan secara bertingkat. Oleh karena itu untuk memperoleh daya desinfeksi yang lebih tinggi pada ekstrak kulit kayu Pidada dapat dilakukan salah satunya dengan cara meningkatkan kemurnian senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak tersebut dengan melakukan ekstraksi bertingkat.

Bila ditinjau secara keseluruhan hasil penelitian ini, maka ekstrak kulit kayu pidada memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai *sanitizer* untuk pengolahan udang maupun ikan. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh informasi lebih lanjut. Salah satunya dengan mengembangkan metode ekstraksi yang lebih efektif serta menyelidiki kandungan utama yang berperan besar sebagai antibakteri dalam ekstrak kulit kayu pidada. Serta hal lain yang perlu diperhatikan adalah keamanan konsumsi bahan pangan yang dicuci menggunakan ekstrak kulit kayu Pidada. Oleh karena itu juga perlu dilakukan pengujian toksisitas ekstrak kulit kayu Pidada.

4. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu rendemen ekstrak solid kulit kayu pidada adalah 12.41 g dari 2000 g berat kulit kayu pidada basah (sekitar 0,62%). Secara umum pencucian dengan larutan *sanitizer* yang mengandung ekstrak kulit kayu Pidada efektif dalam menurunkan tingkat kontaminasi mikroba pada udang segar. Dosis terbaik yaitu pada dosis ekstrak kulit kayu Pidada 100 ppm yang mampu menurunkan jumlah mikroba kontaminan pada udang tersebut hingga 77%.

5. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Bapak Budiman dan tim yang telah membantu selama proses pengumpulan bahan baku kulit kayu Pidada. Terima kasih kepada seluruh jajaran dosen dan teknisi Prodi Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Politeknik Negeri Pontianak atas masukan dan dukungannya selama pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

- Avenido P., dan A.E. Serrano Jr. 2012. Effects of the Apple Mangrove (*Sonneratia caseolaris*) on Antimicrobial, Immunostimulatory and Histological Responses in Black Tiger Shrimp Postlarvae Fed at Varying Feeding Frequency. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*. 5(3): 112-123.
- Badan Pusat Statistik. 2017. *Ekspor Udang Menurut Negara Tujuan Utama, 2000-2015*. [Online] From: <https://www.bps.go.id>. [Diakses pada 1 Mei 2017].
- Bobbarala, V., V. Vadlapudi dan K.C. Naidu. 2009. Mangrove Plant *Sonneratia apetala* Antimicrobial Activity on Selected Pathogenic Microorganisms. *Oriental Journal of Chemistry*. 25(2): 445-447.
- Duong, N.T.H. 2005. *The Sanitising Efficiency of Different Disinfectants Used in The Fish Industry*. Reykjavik: The United Nations University Fisheries Training Programme.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. 2015. Risks For Public Health Related To The Presence of Chlorate in Food. *European Food Safety Authority Journal*. 13(6): 1-103.
- Gaulin, C., Lê, M.L., Shum, M. dan D. Fong. 2011. *Disinfectants And Sanitizers for Use on Food Contact Surfaces*. Vancouver: National Collaborating Centre for Environmental Health.
- Hattersley, J.G. 2000. The Negative Health Effect of Chlorine. *The Journal of Orthomolecular Medicine*. 15(2): 89-95.

- Hardjito, L. dan D.W. Harianja. 2006. Kajian Biodesinfektan dari Ekstrak Senggi (Pempisacidula) Sebagai Aternatif Pengganti Klorin Dalam Industri Pengolahan Udang. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(2): 149-156.
- Harris, D.C. 2015. *Quantitative Chemical Analysis*. 9th ed. New York: Macmillan Learning.
- Jaimini, D., C. Sarkar, A.A. Shabnam dan B.L. Jadhav. 2011. Evaluation of Antibacterial Properties of Mangrove Plant Sonneratia apetala Buch.Ham Leaf. *World Applied Sciences Journal*. 14(11): 1683-1686.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2013. *Kelautan dan Perikanan Dalam Angka 2013*. Jakarta: Pusat Data Statistik dan Informasi.
- Northeast Organic Farming Association of New York. 2015. *USDA National Organic Program 7 CFR Parts 205.272 - Commingling and Contact with Prohibited Substance Prevention Practice Standard*. New York: NOFA-NY Certified Organic LLC.
- Morris, R.D., A.M. Audet, I.F. Angelillo, T.C. Chalmers, dan F. Mosteller. 1992. Chlorination, Chlorination By-products, and Cancer: A Meta-analysis. *American Journal of Public Health*. 82(7): 955-963.
- Parker, A. 2007. *JIFSAN Good Aquacultural Practices Manual - Effective Cleaning and Sanitizing Procedures*. Maryland: University of Maryland and the Johnson Diversey Corporation.
- Sahoo, G., N.S. Mulla, Z.A. Ansari dan C. Mohandass. 2012. Antibacterial Activity of Mangrove Leaf Extracts against Human Pathogens. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 74(4): 348-351.
- Simlai, A., R. Archana, S. Mishra, K. Mukherjee dan A. Roy. 2014. Antimicrobial and Antioxidative Activities in The Bark Extracts of Sonneratia caseolaris, A Mangrove Plant. *EXCLI Journal*. 13: 997-1010.
- Standar Nasional Indonesia 01-2332.3. 2006. *Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 3 : Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- U.S. Food and Drug Administration. 2016. *Code of Federal Regulations Title 21 Parts 178 - Indirect Food Additives: Adjuvants, Production Aids, and Sanitizers*. Maryland: Food and Drug Administration.